

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

MAURÍCIO ALBERTO POLETTI PAPI

CONSTRUÇÃO E AVALIAÇÃO DE ELETRODO MODIFICADO COM  
NANOCOMPÓSITO PRATA-POLIPIRROL PARA A DETERMINAÇÃO DE  
GLICOSE

CURITIBA

2014

MAURÍCIO ALBERTO POLETTI PAPI

CONSTRUÇÃO E AVALIAÇÃO DE ELETRODO MODIFICADO COM  
NANOCOMPÓSITO PRATA-POLIPIRROL PARA A DETERMINAÇÃO DE  
GLICOSE

Dissertação apresentada como requisito parcial à  
obtenção do grau de Mestre em Química Analítica,  
Programa de Pós-Graduação em Química, Setor de  
Ciências Exatas, Universidade Federal do Paraná.

Orientador: Prof. Dr. Luiz H. Marcolino Jr  
Coorientador: Prof. Dr. Márcio F. Bergamini

CURITIBA

2014

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELO SISTEMA DE BIBLIOTECAS/UFPR  
BIBLIOTECA DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA

---

P215c      Papi, Maurício Alberto Poletti  
              Construção e avaliação de eletrodo modificado com nanocompósito prata-polipirrol para a determinação  
              de glicose / Maurício Alberto Poletti Papi. – Curitiba, 2014.  
              89 p. : il. color. ; 30 cm.

Dissertação - Universidade Federal do Paraná, Setor de Ciências Exatas, Programa de Pós-Graduação  
em Química, 2014.

Orientador: Luiz H. Marcolino Jr.  
Coorientador: Márcio F. Bergamini.

1. Nanopartículas de prata. 2. Polipirrol. 3. Nanocompósito. 4. Detecção de glicose. 5. Microemulsão  
reversa. I. Universidade Federal do Paraná. II. Marcolino Jr, Luiz H. III. Bergamini, Márcio F. IV. Título.

CDD: 543

# TERMO DE APROVAÇÃO

## CONSTRUÇÃO E AVALIAÇÃO DE ELETRODO MODIFICADO COM NANOCOMPÓSITO PRATA-POLIPIRROL PARA DETERMINAÇÃO DE GLICOSE

por

**MAURÍCIO ALBERTO POLETTI PAPI**

Dissertação aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de  
Mestre no Programa de Pós-Graduação em Química,  
pela Comissão Examinadora composta por:

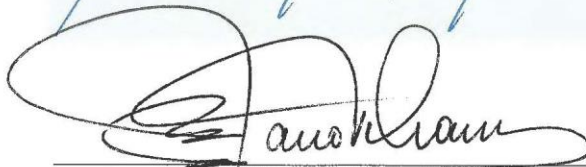
Orientador:



Prof. Dr. Luiz Humberto Marcolino Jr.  
Dep. de Química – UFPR



Profª Drª Marcela Mohallem Oliveira  
Dep. de Química e Biologia – UTFPR



Prof. Dr. Marco Tadeu Grassi  
Dep. de Química – UFPR

Curitiba, 21 de março de 2014.

## AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer aos meus professores e orientadores, Luiz Humberto e Márcio F. Bergamini pela orientação durante toda a execução do projeto do mestrado, por toda a ajuda, não só científica, mas também emocional que passei durante todo esse processo, com bastante paciência e atenção, além da grande amizade.

Aos professores Marco Grassi, Marcela Oliveira e Gilberto Abate pelas grandes contribuições no exame de qualificação e na defesa desse trabalho.

A todos os membros do LabSense pelo ótimo ambiente de amizade e (de vez em quando) trabalho: Paulo, Eduardo, Alyne, Cris, Mikka, Ava, Fábio, Deonir, Fran, Lis, Viviane, Arthur, Letícia, Gustavo e Jeferson pelo grande suporte que me deram com muita amizade, aguentando as minhas muitas alucinações, loucuragens e pirações, e com grandes passeios até a CASA 3. Não podendo deixar-se esquecer das muitas porções, cervejas e pizzas no meio do caminho. “Consegui ficar vivo, ganhei a aposta”.

Ao professor Aldo Zarbin por toda infraestrutura oferecida e disponibilidade no desenvolvimento da síntese das nanopartículas.

A todos os alunos e amigos do GQM, Síntese Orgânica, LaQMA, e demais laboratórios. Em especial à Allen, Mascote, Carol, Rodrigo, Samantha, Vicente e Fábio por toda a convivência e ajuda durante a parte experimental, disponibilizando tempo e atenção.

A meus primos e amigos que me receberam e introduziram “à cidade grande” Carla, Nicolas, Chris, Taísa e Fran, além de todo o apoio e força para me manter nessa empreitada, aumentando ainda mais os nossos laços e tornando-nos numa nova família.

A todos meus amigos de Toledo, Nicole, Jaque, Leo, Drika, Wanessa, Roberta pela grande amizade e momentos muito especiais, com muita jogatina, tererê e pipoca.

A CAPES e CNPq pela bolsa concedida.

Com o mais importante para o final, a toda a minha família, em especial a minha mãe, que sem ela, seus empurrões pra me por pra cima, suas orações, além de seu incondicional amor, não chegaria até aqui nem seria o que sou hoje, na busca de realizar os sonhos e planos que tracei, sendo a causa de “alguns” de seus cabelos

brancos (não posso ausentar meus irmãos nessa causa). Agradeço aos meus irmãos, Carlos pelo grande companheirismo, apoio e momentos que passamos juntos em uma primeira etapa de nossas vidas, e minha sempre pequeninha Maria Fernanda pelo grande amor e carinho que temos; em que nós três passamos por todos esses anos juntos, nos momentos felizes ou tristes, que são inerentes de todos nós.

A todos aqueles que contribuíram direta ou indiretamente no desenvolvimento deste trabalho, muito obrigado!

## RESUMO

Existem diversos relatos na literatura descrevendo procedimentos eletroanalíticos para a determinação de glicose, frequentemente utilizando biossensores. A busca por materiais não-biológicos para a determinação de glicose é um desafio e, dentro deste contexto, materiais nanocompósitos do tipo metal-polímero são candidatos promissores para serem utilizados na eletrooxidação da glicose, pois este tipo de material possui propriedades diferenciadas quando comparados com os sólidos estendidos correspondentes. Aplicações eletroanalíticas baseadas no emprego de polímeros eletroativos merecem destaque pois são matrizes adequadas para as nanopartículas metálicas facilitando a transferência de carga na interface eletrodo-solução. Baseado nos argumentos supracitados, o presente trabalho descreve a síntese e caracterização de um novo nanocompósito constituído de nanopartículas de prata e polipirrol (NCAgPPy) e sua aplicação para determinação amperométrica de glicose. A síntese do NCAgPPy foi realizada empregando-se o método de microemulsão reversa, a partir de duas microemulsões preparadas separadamente: uma contendo o precursor metálico ( $\text{AgNO}_3$ ) e outra com o monômero pirrol (Py). A caracterização do nanomaterial foi feita utilizando as técnicas de difração de raio-x e TEM, que confirmaram a presença de nanopartículas de  $\text{Ag}^0$  e  $\text{Ag}_2\text{O}$ , com morfologia semiesférica (tamanho médio de  $12 \pm 5$  nm) estando envoltas na matriz de polipirrol. Medidas de voltametria cíclica em meio de  $\text{NaOH}$   $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  foram realizadas utilizando um eletrodo de carbono vítreo (ECV, área geométrica =  $0,03 \text{ cm}^2$ ) modificado por *drop-casting* com  $3,0 \mu\text{L}$  da dispersão  $1,0 \text{ mg mL}^{-1}$  do NCAgPPy, em água, chamado de eletrodo quimicamente modificado (EQM). O perfil voltamétrico do nanocompósito preparado foi comparado a um eletrodo convencional de prata, nas mesmas condições, sendo verificado a presença de um pico de oxidação auto-catalítico, em  $0,60 \text{ V}$  para o nanocompósito, esse sinal é referente à formação de óxido de prata (II), o que não foi observado no eletrodo de prata. A determinação da área ativa para eletrodos, convencional e o modificado com o nanocompósito foi realizada através da carga elétrica referente ao pico de redução do óxido de prata ( $\text{Ag}_2\text{O}$ ) observada em  $0,08 \text{ V}$ , sendo que a área ativa do NCAgPPy é de  $449 \text{ nmol cm}^{-2}$  e do eletrodo de prata é de  $8,16 \text{ nmol cm}^{-2}$ , assim um efeito 55 vezes maior de prata ativa foi verificada para o material proposto. A determinação amperométrica da glicose, após processo de otimização da metodologia foi realizada em um potencial de  $0,90 \text{ V}$  e apresentou uma faixa de resposta linear de  $2,5 \times 10^{-5}$  a  $1,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$  de glicose, obteve-se um coeficiente linear de  $1,26 \times 10^4 \mu\text{A L mol}^{-1}$  com limite de detecção de  $1,03 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ . Por fim, aplicou-se o dispositivo para a determinação de glicose em saliva artificial, com boa recuperação para os três níveis estudados ( $30, 50$  e  $80 \mu\text{mol L}^{-1}$ ). Pode-se concluir que foi possível obter um novo nanocompósito sem a utilização de estabilizadores e com a espontânea redução do metal pelo polímero eletroativo e que este material pode ser empregado para a construção de sensores eletroquímicos para glicose. Com a determinação amperométrica é possível notar a potencialidade do dispositivo para determinação não-enzimática da glicose em saliva, com o desenvolvimento, assim, de um sensor não invasivo para determinação de glicose.

Palavras-chave: Nanopartículas de prata; polipirrol; Nanocompósito; Detecção de glicose; microemulsão reversa



## ABSTRACT

There are several reports in literature describe electroanalytical determination of glucose procedures, frequently using biosensors. The search for non-biological materials for the determination of glucose is challenge and in this context, nanocomposite materials metal-polymer is promising candidates for use in the electrooxidation of glucose, because this type of material has different properties when compared with corresponding bulk. An electroanalytical application, based in the use of electroactive polymers is suitable as a matrix for metal nanoparticles, because it facilitates the charge transfer at the electrode-solution interface. Based on the above arguments, the present work describes the synthesis and characterization of a novel nanocomposite consisting of silver nanoparticles and polypyrrole (NCAgPPy) and its application for amperometric determination of glucose. The synthesis of NCAgPPy was carried out using the method of reverse microemulsion, with two microemulsion separately prepared: one containing the metal precursor ( $\text{AgNO}_3$ ) and another with the pyrrole monomer (Py). The characterization of the nanomaterial was made using the techniques how x-ray diffraction and MET, which confirmed the presence of nanoparticles  $\text{Ag}^0$  and  $\text{Ag}_2\text{O}$ , with hemispherical morphology (average size of  $12 \pm 5$  nm) being capped for polypyrrole matrix. Cyclic voltammetry measurements in medium of  $\text{NaOH}$   $0.1 \text{ mol L}^{-1}$  were performed using a glassy carbon electrode (GCE, geometric area =  $0.03 \text{ cm}^2$ ) modified by drop-casting with  $3,0 \mu\text{l}$  of a dispersion of  $1.0 \text{ mg mL}^{-1}$  NCAgPPy in water, called chemically modified electrode (CME). The voltammetric profile of the nanocomposite front of a conventional silver electrode under the same conditions, can be seen only the presence of an oxidation autocatalytic peak in the nanocomposite, at  $0.60 \text{ V}$ , related to the formation of silver oxide (II), not observable in the silver bulk electrode. Realizing the determination of the active area of these two electrodes, by measuring the reduction peak of silver oxide ( $\text{Ag}_2\text{O}$ ) in  $0.08 \text{ V}$ , the active area is  $449 \text{ nmol cm}^{-2}$  for NCAgPPy and  $8.16 \text{ nmol cm}^{-2}$  for silver bulk electrode, with 55 times more mols of active silver. The amperometric determination of glucose after methodology optimization process, with applied potential of  $0.90 \text{ V}$ , presented a linear response range of  $2.5$  to  $1.0 \times 10^{-5} \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$  glucose, yielded a linear coefficient of  $1.26 \times 10^4 \mu\text{A L mol}^{-1}$ , with a detection limit of detection of  $1.03 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ . Finally, the device was applied to determination of glucose in artificial saliva, with good recovery for the three levels studied ( $30$ ,  $50$  and  $80 \mu\text{mol L}^{-1}$ ). Can be concluded that it was possible obtain a new nanocomposite without the use of stabilizers and the spontaneous metal reduction by electroactive polymer and this material can be used for construction of an electrochemical glucose sensors. With amperometric determination is possible to notice the capability of the device to non-enzymatic determination of glucose in saliva, with the development of a non-invasive sensor for glucose determination.

**Keywords:** Silver nanoparticles; Polypyrrole; Nanocomposite; Glucose detection; Reverse microemulsion



## LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 - (A) EFEITOS DA INSULINA SOBRE A HOMEOSTASE DA GLICOSE NO ESTADO ALIMENTADO; (B) EVENTOS METABÓLICOS LEVANDO A HIPERGLICEMIA NO ESTADO PÓS-ABSORTIVO EM <i>DIABETES MELLITUS</i> NÃO CONTROLADA .....	17
FIGURA 2 - ESQUEMA DE UM BIOSSENSOR DE PRIMEIRA GERAÇÃO .....	19
FIGURA 3 - ESQUEMA DE UM BIOSSENSOR DE SEGUNDA GERAÇÃO .....	20
FIGURA 4 - ESQUEMA DE SÍNTESE DO GN-PY-GOX.....	21
FIGURA 5 - PROCEDIMENTO PARA AVERIGUAÇÃO DE GLICOSE COM O DISPOSITIVO BIOSENSOR GOD DA MARCA TESTLINE .....	22
FIGURA 6 - PROCESSAMENTO DE SINAIS EM ORGANISMOS VIVOS E SENSORES .....	24
FIGURA 7 - COMPORTAMENTO VOLTAMÉTRICO GENÉRICO PELO TRANSPORTE DE MASSA PARA: A) ELETRODO CONVENCIONAL B) ELETRODO BASE ALTAMENTE RECOBERTO POR NANOPARTÍCULAS C) ELETRODO BASE POUCO RECOBERTO POR NANOPARTÍCULAS .....	28
FIGURA 8 - VOLTAMETRIA LINEAR DE $10 \mu\text{mol L}^{-1}$ DE CEFTAZIDIMA EM ELETRODOS DE CARBONO VÍTREO, MODIFICADO COM NANOTUBOS DE CARBONO, E MODIFICADO COM NANOPARTÍCULAS DE PALÁDIO-OURO DECORADAS EM NANOTUBOS DE CARBONO.....	29
FIGURA 9 - VOLTAMETRIA DE PULSO DIFERENCIAL PARA ELETRODO DE CARBONO VÍTREO, ELETRODOS DE CARBONO VÍTREO MODIFICADOS COM NANOPARTÍCULAS DE PALÁDIO, GRAFENO E QUITOSANA, E NANOPARTÍCULAS DE PALÁDIO/GRAFENO/ QUITOSANA, CONTENDO $3 \text{ mmol L}^{-1}$ DE ÁCIDO ASCÓRBICO, $0,5 \text{ mmol L}^{-1}$ DE DOPAMINA E $1 \text{ mmol L}^{-1}$ DE ÁCIDO ÚRICO.....	29
FIGURA 10 - DIAGRAMA DE ESTABILIZAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS (A) ESTABILIZAÇÃO ELETROSTÁTICA, (B) A ESTABILIZAÇÃO ESTÉRICA E (C) REGIÃO DE ALTA CONCENTRAÇÃO DE POLÍMERO .....	32
FIGURA 11 - REPRESENTAÇÃO DAS MICELAS EM MICROEMULSÃO (A) DIRETA E (B) REVERSA.....	36
FIGURA 12 – ESQUEMA DE PREPARAÇÃO DE PREPARAÇÃO DOS NANOCOMPÓSITOS POR MICROEMULSÃO REVERSA .....	41
FIGURA 13 - MODIFICAÇÃO DO ELETRODO DE CARBONO VÍTREO (ECV) COM $1,0 \mu\text{L}$ – 3 VEZES, DIFERENTES DISPERSÕES DE $1,0 \text{ mg mL}^{-1}$ DO NCAGPPy, EM ÁGUA.....	42

FIGURA 14 - REPRESENTAÇÃO DAS ETAPAS NA SÍNTESE POR MICROEMULSÃO DE NANOCOMPÓSITO PRATA/PIRROL.....	48
FIGURA 15 - REAÇÃO REDOX ENTRE A PRATA E O PIRROL, COM A FORMAÇÃO DO POLIPIRROL E NANOPARTÍCULAS DE PRATA.....	49
FIGURA 16 - VOLTAMOGRAMA CÍCLICO DO NCAGPPY1-1:2, NA FAIXA DE -0,3 A 0,9 V (PRETO) E NA FAIXA DE -0,3 A 0,6 V (VERMELHO), $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$ EM NaOH 0,10 $\text{mol L}^{-1}$ .....	50
FIGURA 17 - VOLTAMOGRAMAS CÍCLICOS OBTIDOS PARA NA AUSÊNCIA E NA PRESENÇA DE 1,0 $\text{mol L}^{-1}$ DE GLICOSE PARA (A) ELETRODO DE CARBONO VÍTREO, (B) ELETRODO DE CARBONO VÍTREO MODIFICADO COM 3,0 $\mu\text{L}$ DA DISPERSÃO 1,0 mg E (C) ELETRODO DE PRATA <i>bulk</i> . $u = 50 \text{ mV s}^{-1}$ EM NaOH 0,10 $\text{mol L}^{-1}$ . EM DESTAQUE O PROCESSO SECUNDÁRIO PARA DETERMINAÇÃO DE GLICOSE .....	52
FIGURA 18 - COMPORTAMENTO DE 0,001 $\text{MOL L}^{-1}$ DE GLICOSE PARA ELETRODO DE CARBONO VÍTREO MODIFICADO COM 3,0 $\mu\text{L}$ DA DISPERSÃO 1,0 mg. $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$ EM NaOH 0,10 $\text{mol L}^{-1}$ . ESQUEMA DO MECÂNISMO DA PRATA COM A GLICOSE.....	53
FIGURA 19 - VARIAÇÃO DA CORRENTE DE PICO ANÓDICA DO ÓXIDO DE PRATA (II) COM SUCESSIVOS CICLOS. $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$ EM NaOH 0,10 $\text{mol L}^{-1}$ . .....	55
FIGURA 20 - (A) VOLTAMOGRAMAS CÍCLICOS OBTIDOS COM O NCAgPPy60-1:2 EM SOLUÇÃO DE NaOH 0,10 $\text{mol L}^{-1}$ NA AUSÊNCIA E NA PRESENÇA DE DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE GLICOSE (DESTAQUE PARA OS PICOS MONITORADOS) E (B) CURVA ANALÍTICA OBTIDA PARA DETERMINAÇÃO DE GLICOSE. $u = 50 \text{ mV s}^{-1}$ .....	56
FIGURA 21 - VARIAÇÃO DA SENSIBILIDADE (INCLINAÇÃO DA CURVA ANALÍTICA) PARA DETERMINAÇÃO DE GLICOSE DE $1,0 \times 10^{-4}$ A $1,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ , COM DIFERENTES TEMPOS DE REAÇÃO: 30, 60, 120, 180 E 300 s. FIXADA A RAZÃO MOLAR Ag:Py 1:2 (N=9).....	57
FIGURA 22 - IMAGENS DE MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE TRANSMISSÃO OBTIDAS PARA (A) NCAgPPy30-1:2; (B) NCAgPPy60-1:2; (C) NCAgPPy120-1:2; (D) NCAgPPy180-1:2; e (E) NCAgPPy300-1:2 .....	58
FIGURA 23 - VARIAÇÃO DA SENSIBILIDADE PARA DETERMINAÇÃO DE GLICOSE DE $1,0 \times 10^{-4}$ A $1,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ , COM DIFERENTES RAZÃO MOLAR Ag:Py: 1:0,5, 1:1, 1:2, 1:4 E 1:8. FIXADO TEMPO DE REAÇÃO 60 SEGUNDOS (N=9). .....	59
FIGURA 24 - IMAGENS DE MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE TRANSMISSÃO OBTIDAS PARA (A) NCAgPPy60-1:0,5 E (B) NCAgPPy60-1:2.....	60
FIGURA 25 - IMAGENS DE MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE TRANSMISSÃO PARA (A) NCAgPPy60-1:4 e (B) NCAgPPy60-1:8.....	61

FIGURA 26 - IMAGENS DE MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA PARA UMA SUPERFÍCIE DE VIDRO MODIFICADA COM NCAgPPy60-1:4 (A) COM UM AUMENTO DE 100 VEZES E (B) COM UM AUMENTO DE 75 MIL VEZES .....	63
FIGURA 27 - IMAGEM DE MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE TRANSMISSÃO OBTIDA PARA O NCAgPPy60-1:4 .....	65
FIGURA 28 - HISTOGRAMA DE FREQUÊNCIA RELATIVA DO TAMANHO DOS NANOCOMPÓSITOS NCAgPPy60-1:4, COM CONTAGEM DE 1000 PARTÍCULAS .....	65
FIGURA 29 - ESPECTROGRAMA DE INFRAVERMELHO DA AMOSTRA NCAgPPy60-1:4 .....	66
FIGURA 30 - DIFRATOGRAMA DE RAIOS-X OBTIDO DA AMOSTRA NCAgPPy60-1:4. ....	68
FIGURA 31 - CURVA TERMOGRAVIMÉTRICA OBTIDA PARA O COMPÓSITO NCAgPy60-1:4. ATMOSFERA DE AR SINTÉTICO, 5° C min <sup>-1</sup> .....	69
FIGURA 32 - VARIAÇÃO DA SENSIBILIDADE PARA ECV MODIFICADO COM NCAgPPy60-1:4 PARA DETERMINAÇÃO DE GLICOSE DE 1,0 x 10 <sup>-4</sup> a 1,0 x 10 <sup>-2</sup> mol L <sup>-1</sup> , COM DIFERENTES POTENCIAIS APLICADOS (N=3) .....	70
FIGURA 33 - VARIAÇÃO DA SENSIBILIDADE PARA ECV MODIFICADO COM NCAgPPy60-1:4 PARA DETERMINAÇÃO DE GLICOSE DE 1,0 x 10 <sup>-4</sup> a 1,0 x 10 <sup>-2</sup> mol L <sup>-1</sup> PARA DIFERENTES VOLUMES DE MODIFICADOR, COM POTENCIAL APLICADO de 0,90 V (n=3) .....	71
FIGURA 34 - VARIAÇÃO DA SENSIBILIDADE PARA ECV MODIFICADO COM 5,0 µL DO NCAgPPy60-1:4 PARA DETERMINAÇÃO DE GLICOSE DE 1,0 x 10 <sup>-4</sup> a 1,0 x 10 <sup>-2</sup> mol L <sup>-1</sup> .....	73
FIGURA 35 - VARIAÇÃO DA SENSIBILIDADE PARA ECV MODIFICADO COM 5,0 µL DO NCAgPPy60-1:4 PARA DETERMINAÇÃO DE GLICOSE DE 1,0 x 10 <sup>-4</sup> a 1,0 x 10 <sup>-2</sup> mol L <sup>-1</sup> .....	73
FIGURA 36 - (A) CRONOAMPEROGRAMA OBTIDO PARA O ECV MODIFICADO COM NCAgPPy60-1:4 PARA DETERMINAÇÃO DE GLICOSE DE 2,5 x 10 <sup>-5</sup> a 1,0 x 10 <sup>-2</sup> mol L <sup>-1</sup> (DETALHE) APROXIMAÇÃO DA REGIÃO DE 0 A 250 S; E (B) CURVA ANALÍTICA PARA O ELETRODO MODIFICADO COM 5 µL DO NCAgPPy60-1:4 (n=5).....	75
FIGURA 37 - (A) CRONOAMPEROGRAMA COM ADIÇÃO DE PADRÃO DO ECV MODIFICADO COM NCAgPPy60-1:4 COM ENRIQUECIMENTO 50 µmol L <sup>-1</sup> DE GLICOSE EM SALIVA ARTIFICIAL SAGF; (B) CURVA ANALÍTICA DE ADIÇÃO DE PADRÃO, NAS CONCENTRAÇÕES DE 25, 50, 75 e 100 µmol L <sup>-1</sup> DE GLICOSE..	78

## LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - COMPOSIÇÃO DA SALIVA ARTIFICIAL DE GAL E FOVET.....	46
TABELA 2 - COMPARAÇÃO ENTRE O NÚMERO DE MOL DE PRATA ATIVOS PARA O NANOCOMPÓSITO NCAgPPy60-1:4 E ELETRODO DE PRATA <i>BULK</i> .....	61
TABELA 3 - CONDIÇÕES OTIMIZADAS PARA DETERMINAÇÃO DE GLICOSE POR CRONOAMPEROMETRIA.....	72
TABELA 4 - COMPARAÇÃO DO DESEMPENHO ANALÍTICO DO SENSOR PROPOSTO COM OUTROS SENSORES DE GLICOSE PUBLICADOS.....	76
TABELA 5 - ESTUDO DE RECUPERAÇÃO DE GLICOSE EM SALIVA ARTIFICIAL (N=3).....	77

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ATG	-	Análise Termogravimétrica
CNT	-	Nanotubo de carbono
E	-	Potencial
ECV	-	Eletrodo de carbono vítreo
EQM	-	Eletrodo quimicamente modificado
F	-	Constante de Faraday
FTIR	-	Espectroscopia na Região do Infravermelho por Transformada de Fourier
GOx	-	Glicose oxidase
hkl	-	Planos 3D da estrutura de um sólido cristalino
I	-	Corrente
$I_{pa}$	-	Corrente de pico anódico
LD	-	Limite de detecção
LDR	-	Faixa de determinação linear
M	-	Mediador de elétrons
MET	-	Microscopia eletrônica de transmissão
MEV	-	Microscopia eletrônica de varredura
NCs	-	Nanocompósito
NCAgPPy	-	Nanocompósito de prata e polipirrol
NPs	-	Nanopartículas
POD	-	Peroxidase
Py	-	Pirrol
SAGF	-	Saliva Artificial de Gal e Fovet
VC	-	Voltametria cíclica
$\phi$	-	Diâmetro da superfície eletródica
° C	-	Graus Celsius

## SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO .....	15
1.1	GLICOSE.....	17
1.1.1	Métodos para determinação de glicose .....	18
1.1.1.1	Exame clínico .....	18
1.1.1.2	Sensores enzimáticos .....	19
1.1.1.3	Monitores portáteis de glicose .....	21
1.1.1.4	Sensores não-enzimáticos .....	22
1.2	SENSORES ELETROQUÍMICOS .....	23
1.2.1	Modificação de eletrodos .....	25
1.2.2	Uso de nanopartículas em eletroanalítica .....	27
1.2.3	Prata e nanopartículas .....	30
1.3	NANOPARTÍCULAS E NANOCOMPÓSITOS .....	30
1.3.1	Nanocompósitos inorgânico-orgânico .....	32
1.4	MICROEMULSÕES.....	35
1.4.1	Microemulsão para síntese de nanopartículas .....	36
2	OBJETIVOS .....	39
2.1	OBJETIVO GERAL.....	39
2.2	ETAPAS PROPOSTAS .....	39
3	MATERIAIS E MÉTODOS.....	40
3.1	SÍNTESE DE NANOCOMPÓSITOS PRATA E POLIPIRROL (NCAgPPy) .....	40
3.1.1	Método de microemulsão reversa .....	40
3.1.2	Otimização do tempo de reação .....	41
3.1.3	Otimização da razão molar Ag:Py.....	42
3.1.4	Otimização eletroquímica dos diferentes nanocompósitos preparados .....	42
3.1.4.1	Modificação do Eletrodo e Medidas Eletroquímicas .....	42
3.1.4.2	Comportamento eletroquímico do EQM na presença de glicose.....	43
3.1.4.3	Estimativa da área eletroativa .....	43
3.2	CARACTERIZAÇÃO ESTRUTURAL E MORFOLÓGICA DOS NANOCOMPÓSITOS DE PRATA E POLIPIRROL (NCAgPPy).....	43
3.2.1	Caracterização por Microscopia Eletrônica de Transmissão.....	43
3.2.2	Caracterização por Microscopia Eletrônica de Varredura .....	44
3.2.3	Caracterização por Espectroscopia na Região do Infravermelho .....	44
3.2.4	Caracterização estrutural por difração de raio-X .....	44
3.2.5	Caracterização por Análise Termogravimétrica .....	45
3.3	DETERMINAÇÃO CRONOAMPEROMÉTRICA DE GLICOSE EMPREGANDO O EQM COM O NCAgPPy .....	45

3.3.1	Estudo do potencial aplicado .....	45
3.3.2	Estudo do volume da suspensão de NCAgPPy na superfície do eletrodo....	45
3.3.3	Determinação de glicose em saliva sintética .....	46
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	47
4.1.	SÍNTESE DE NANOCOMPÓSITOS DE PRATA E POLIPIRROL .....	47
4.1.1.	Desenvolvimento do método de microemulsão .....	47
4.1.2.	Comportamento Eletroquímico do NCAgPPy .....	49
4.1.3.	Comportamento Eletroquímico do NCAgPPy na presença de glicose.....	51
4.1.4.	Efeito do pré-tratamento do eletrodo.....	54
4.2.	OTIMIZAÇÃO DOS PARÂMETROS REFERENTES À SÍNTESE DO NANOCOMPÓSITO .....	55
4.2.1.	Efeito do tempo de reação .....	57
4.2.2.	Efeito da razão molar Ag:Py.....	59
4.3.	CARACTERIZAÇÃO ELETROQUÍMICA, MORFOLÓGICA E ESTRUTURAL DO NCAgPPy.....	62
4.3.1.	Estimativa da quantidade de prata eletroativa .....	62
4.3.2.	Caracterização por Microscopia Eletrônica de Varredura .....	63
4.3.3.	Caracterização por Microscopia Eletrônica de Transmissão.....	64
4.3.4.	Caracterização por Espectroscopia na Região do Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR) .....	66
4.3.5.	Caracterização estrutural Difração de Raio-X.....	67
4.3.6.	Caracterização por Análise Termogravimétrica .....	68
4.4.	DESENVOLVIMENTO DE METODOLOGIA ANALÍTICA PARA DETERMINAÇÃO DE GLICOSE.....	70
4.4.1.	Efeito do potencial aplicado .....	70
4.4.2.	Estudo do volume de dispersão adicionada à superfície do eletrodo .....	71
4.4.3.	Repetibilidade e Reprodutibilidade.....	72
4.4.4.	Curva Analítica para a Determinação de Glicose .....	74
4.4.5.	Determinação de Glicose em saliva sintética .....	76
5	CONCLUSÕES .....	79
	REFERÊNCIAS.....	80



## 1 INTRODUÇÃO

O desenvolvimento de sensores para glicose vem sendo amplamente explorado nos últimos tempos em função da importância de monitorar os níveis de concentração desta espécie no sangue, principalmente devido a problemas com o diabetes.

Sensores e biossensores eletroquímicos têm recebido atenção especial devido a características atrativas tais como rapidez, precisão, boa seletividade e baixo custo. A estratégia mais utilizada é baseada na modificação de eletrodos base com material enzimático, principalmente glucose oxidase (GOx), que pode melhorar significativamente a detectabilidade e seletividade do eletrodo. Apesar destas vantagens, o uso de material biológico na superfície do eletrodo é altamente dependente das condições experimentais (pH, temperatura, entre outras) o que compromete o desempenho do sensor [1,2].

Alternativamente, o uso de sensores eletroquímicos não-enzimáticos tem sido avaliado, principalmente aqueles baseados na oxidação direta da glicose, mesmo em condições de elevado sobrepotencial. Eletrodos a base de metais nobres (prata, ouro, etc.) são bons exemplos, pois possuem excelente condutividade elétrica e a formação de seus óxidos tem sido utilizada para catalisar diversas reações. Além disso, estes sensores são bastante estáveis, são facilmente armazenados e exibem resultados bastante reprodutíveis, mas muitas vezes possuem limitação em parâmetros como sensibilidade e seletividade [2,3].

Nesse sentido, o uso de eletrodos modificados com nanomateriais, especialmente nanopartículas metálicas, tem se tornado bastante atrativo, pois exibem propriedades únicas relacionadas ao tamanho reduzido das partículas (alta área superficial, planos cristalinos mais expostos que no material *bulk* e melhora no transporte de massa) [3-5]. A síntese de nanopartículas, principalmente as metálicas, requer o uso de algum meio de estabilização, para que não ocorra a aglomeração destas partículas, com uma consequente perda de sua “atividade como nanomaterial”. Esta estabilização é geralmente realizada pelo emprego de moléculas orgânicas adsorvidas sobre a superfície das nanopartículas metálicas, os passivantes ou estabilizantes [4]. Tais moléculas, porém, podem causar o isolamento destas nanopartículas inibindo suas

propriedades elétricas, eletroquímicas e catalíticas, especialmente quando se visa um emprego para o desenvolvimento de sensores eletroquímicos.

O uso de polímeros condutores para a passivação de nanopartículas metálicas pode contornar os problemas anteriormente citados, levando à formação de nanocompósitos. Além disso, a combinação de materiais inorgânicos (nanopartículas metálicas) e orgânicos (polímeros condutores) pode fazer com que o produto final apresente características distintas dos materiais isolados. Dentro deste contexto, nanocompósitos do tipo metal-polímero são candidatos promissores como modificador de eletrodos, baseado no fato de que as nanopartículas melhoram as propriedades da matriz polimérica, como a transferência de elétron, enquanto esta oferece funcionalidades flexíveis que garantem o crescimento e distribuição das partículas metálicas, como também uma melhora na transferência de carga na interface eletrodo-solução, facilitando as reações redox e eletrocatalíticas [4,6-8].

No presente trabalho, descrevemos a síntese e caracterização de um nanocompósito constituído de nanopartículas de prata recobertas por uma estrutura de polipirrol e sua posterior aplicação para a determinação amperométrica de glicose. A síntese foi realizada utilizando o procedimento de microemulsão reversa e todos os parâmetros experimentais envolvidos foram otimizados com base nos resultados obtidos a partir de medidas de voltametria cíclica na presença de glicose com o intuito de obter o melhor desempenho eletroquímico do material.

Empregando-se a técnica de microemulsão para a síntese de um nanocompósito prata/polipirrol permite obter um nanomaterial com grande condutividade elétrica, além de uma alta atividade catalítica, uma vez que a microemulsão realiza a estabilização das nanopartículas através das micelas, como também, a geração de finitos nanorreatores, em que cada nanorreator ocorre a reação de forma individualizada, levando a produção de um material uniforme e monodisperso [9].

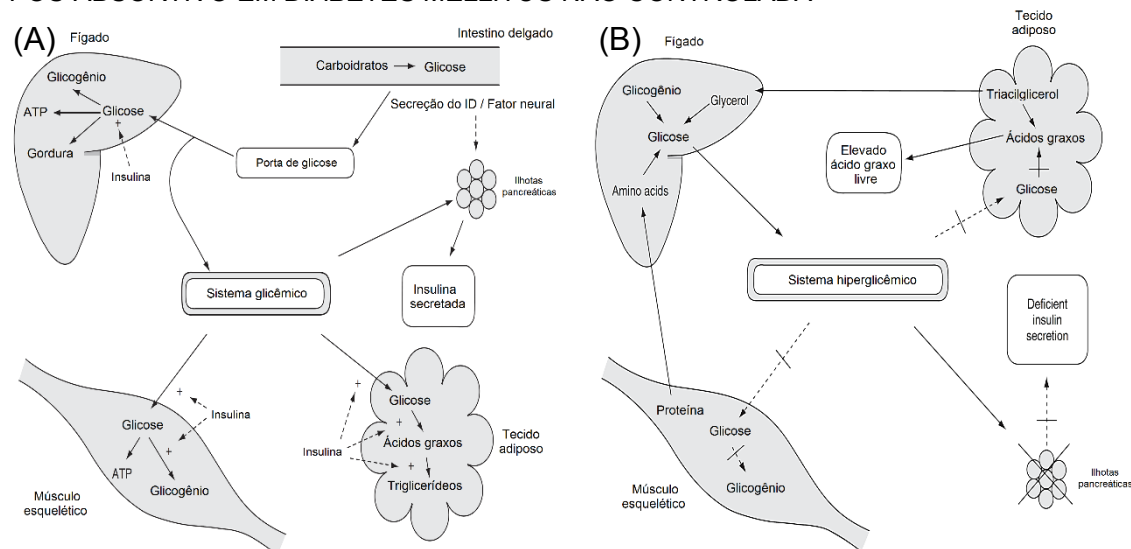
## 1.1 GLICOSE

O composto D-glicose (do grego *glukus*, doce), de fórmula  $C_6H_{12}O_6$ , e com um massa molar de 180,16 kDa, é um dos três carboidratos mais simples, sendo estes monossacarídeos, glicose, frutose e galactose [10].

A glicose é prontamente solúvel em água e está presente na dieta humana principalmente em frutas e vegetais, na forma de frutose e sacarose, que conferem o gosto doce a estes alimentos [10]. A ingestão da glicose também se dá através de sua forma polimerizada, o amido, um polímero com ligação  $\alpha(1-4)$   $(C_6H_{12}O_6)_n$ , que sofre ação da enzima amilase e leva a “quebra” em várias moléculas de glicose [10,11].

Elevadas concentrações de glicose no sangue, conhecido como hiperglicemia, indicam o surgimento da *diabetes mellitus*, uma doença crônica provocada por uma produção insuficiente ou nula de insulina pelo pâncreas (Tipo I), ou diminuição de sua secreção com resistência organismo à insulina (Tipo II) [12]. As Figuras 1A e 1B retratam os efeitos da insulina em um organismo sadio e os efeitos em casos de hiperglicemia, respectivamente.

FIGURA 1 - (A) EFEITOS DA INSULINA SOBRE A HOMEOSTASE DA GLICOSE NO ESTADO ALIMENTADO; (B) EVENTOS METABÓLICOS LEVANDO A HIPERGLICEMIA NO ESTADO PÓS-ABSORTIVO EM *DIABETES MELLITUS* NÃO CONTROLADA



FONTE: Adaptado de CABALLERO (2013) [10].

Frequentemente, há distúrbios associados ao metabolismo de gordura e proteínas, e perturbações na produção de vários outros hormônios. Além das

anormalidades metabólicas graves resultantes, a diabetes em longo prazo, muitas vezes, se caracteriza pelo desenvolvimento de complicações que incluem danos irreversíveis para o rim, retina, sistema nervoso, e sistema cardiovascular [10,12-13].

A concentração normal de glicose plasmática é de 4 a 5 mmol L<sup>-1</sup> (70 a 99 mg dL<sup>-1</sup>). A hiperglicemia geralmente tem uma média de concentração sanguínea de > 10-11 mmol L<sup>-1</sup> (180-200 mg dL<sup>-1</sup>). A concentração de glicose no sangue acima de 7 mmol L<sup>-1</sup> (125 mg dL<sup>-1</sup>) já é considerada distintamente anormal e pode resultar em complicações diabéticas de longo prazo [10,12].

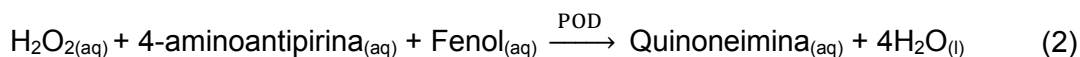
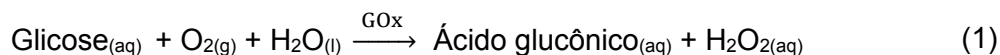
Os níveis de concentração da glicose também podem ser estimados em outros fluídos biológicos. A concentração na saliva humana não estimulada, por exemplo, varia entre 25-100 µmol L<sup>-1</sup>. Esta grande variação é atribuída a diferentes fatores, como a secreção de glicose a partir de diferentes glândulas salivares, a retenção de alimentos na boca, a metabolização de glicose pelas bactérias orais, a liberação de glicoproteínas, entre outros [14-15].

#### 1.1.1 Métodos para determinação de glicose

##### 1.1.1.1 Exame clínico

A determinação de glicose no sangue em exames clínicos é realizada, geralmente, por meio de uma determinação indireta pelo método de Trinder, em que o reagente colorimétrico é vendido em um *Kit* pronto para o uso [16-17]. Os reagentes Trinder são amplamente utilizados em testes de diagnóstico clínico, por terem várias vantagens, tais como alta solubilidade em água e formação de corantes altamente estáveis [17].

A reação para a análise laboratorial (Reação 1 e 2) ocorre a partir da oxidação da glicose catalisada pela enzima glicose oxidase (GOx), produzindo ácido glucônico e peróxido de hidrogênio. Em seguida, através de uma reação oxidativa de acoplamento, catalisada pela peroxidase (POD), o peróxido de hidrogênio formado reage com a 4-aminoantipirina e fenol formando um composto de cor vermelha (quinoneimina), cuja absorbância medida em 505 nm é diretamente proporcional à concentração de glicose na amostra [18-19].



### 1.1.1.2 Sensores enzimáticos

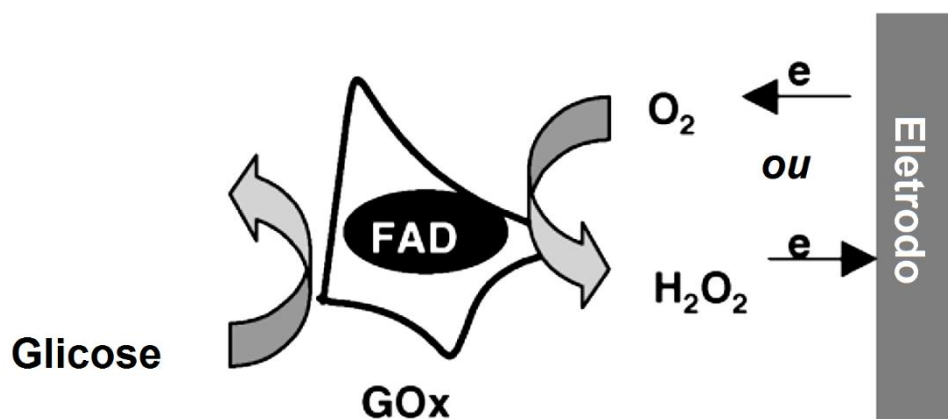
O controle frequente do nível de glicose no sangue é extremamente necessário para os portadores de diabetes, sendo crucial para a confirmação efetiva do tratamento. Portanto, o desenvolvimento de sensores de baixo custo, confiáveis e sensíveis à glicose tem sido objeto de preocupação a décadas [1], sendo os biossensores de glicose responsáveis por cerca de 85% de todo o mercado de biossensores comerciais, atualmente [2].

Clark e Lyons relataram o primeiro eletrodo enzimático em 1962 [20], baseado em uma fina camada de GOx retida sobre um eletrodo para oxigênio através de uma membrana semipermeável de diálise. As medições foram feitas com base no acompanhamento do oxigênio consumido pela reação catalisada pela enzima, a mesma Reação 1 supracitada.

Os sensores amperométricos para determinação de glicose são os mais estudados devido a sua maior detectabilidade, além de facilidade de miniaturização. Estes, podem ser divididos em três gerações [2].

Os sensores de primeira geração exploram o oxigênio como um mediador de elétrons entre a glicose oxidase e a superfície do eletrodo, em que a concentração de glicose pode ser determinada pelo aumento da concentração de  $\text{H}_2\text{O}_2$  ou decréscimo de concentração de  $\text{O}_2$  [21], como ilustrado na Figura 2.

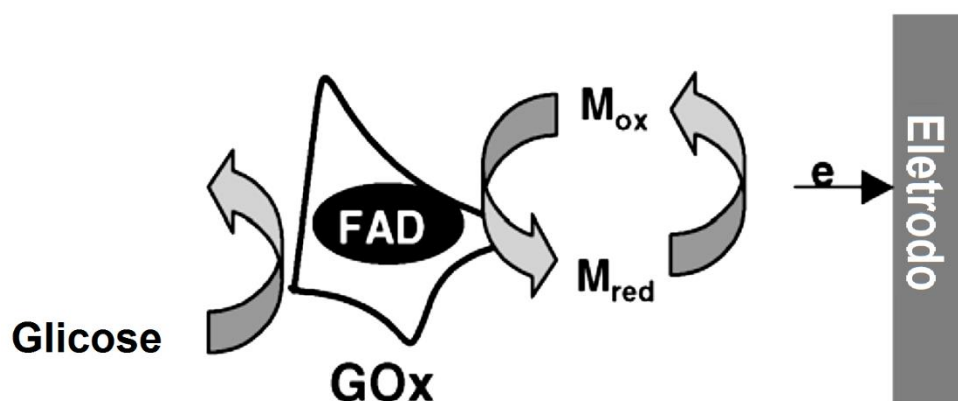
FIGURA 2 - ESQUEMA DE UM BIOCSENSOR DE PRIMEIRA GERAÇÃO



FONTE: Adaptado de CARR; BROWERS (1980) [21].

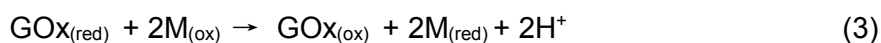
A Figura 3 representa um sensor de segunda geração. Os mediadores de elétrons artificiais (M) são empregados para superar a limitação de oxigênio a baixas pressões. São utilizados como mediadores, por exemplo, ferro/ferricianeto, hidroquinona, ferroceno, além de vários corantes orgânicos [21]. Esses mediadores melhoram a taxa de transferência de elétrons entre o eletrodo e a GOx [1].

**FIGURA 3 - ESQUEMA DE UM BIOSENSOR DE SEGUNDA GERAÇÃO**



FONTE: Adaptado de CARR; BROWERS (1980) [21].

Após a enzima ser reduzida pela reação com a glicose, o mediador redox M, em seu estado oxidado, é reduzido pela GOx, e reoxidado sobre o eletrodo, gerando um sinal de corrente. Este processo pode ser mais bem explicado conforme as seguintes reações (Reação 3 e 4) [2].

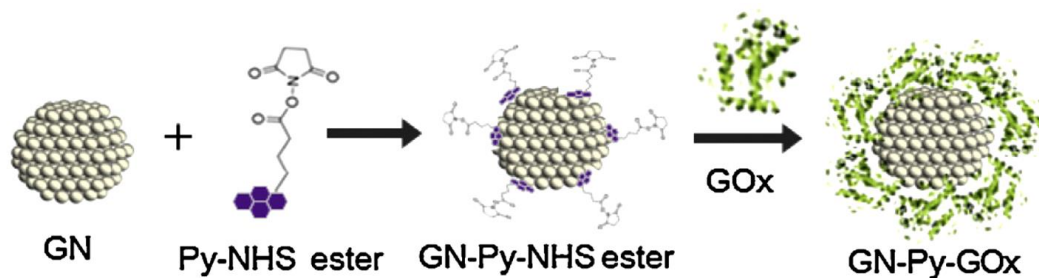


No sensor de glicose de terceira geração, a GOx está diretamente ligada ao eletrodo. Deste modo, ocorre uma transferência direta de elétron entre a enzima e o transdutor, tornando, portando, uma determinação direta da glicose, diferente das duas gerações anteriores que acompanham um produto formado pela reação de oxidação da glicose. Assim, transferência eletrônica direta gera um sinal de saída amperométrico mais eficiente [2]. O melhor desempenho de

detecção por transferência eletrônica direta foi realizado, incluindo a enzima com nanopartículas metálicas [22], e nanomateriais semicondutores [23].

Piao e colaboradores [24] desenvolveram um biossensor para glicose em urina, composto por nanopartículas de grafite (GN) imobilizadas a glicose oxidase por uma ligação com o ácido 1-pirenobutírico éster N-hidroxisuccinimida (Py-NHS éster), conforme Figura 4.

FIGURA 4 - ESQUEMA DE SÍNTESE DO GN-PY-GOX



FONTE: Adaptado de PIAO; HAN; SEO (2014) [24].

Este biossensor apresentou linearidade a partir de  $2,2 \text{ mmol L}^{-1}$  com limite de detecção de  $50 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ .

#### 1.1.1.3 Monitores portáteis de glicose

Os monitores portáteis de glicose, ou glicosímetros, estão cada vez mais presentes no cotidiano de diabéticos, especialmente nos portadores do Tipo I, que utilizam o tratamento com insulina [25].

Os dois principais tipos de glicosímetros presentes no mercado utilizam-se de sensores impressos (tiras de teste descartáveis), em que empregam medidas de reflectometria ou eletroquímica. Ao colocar-se uma gota de sangue sobre estas tiras, uma membrana porosa separa os elementos corpusculares do sangue (especialmente células vermelhas do sangue) e a partir do plasma é realizada a determinação de glicose [25]. A Figura 5 é um esquema do procedimento para averiguação de glicose com o dispositivo Biossensor GOD da marca Testline.



FIGURA 5 - PROCEDIMENTO PARA AVERIGUAÇÃO DE GLICOSE COM O DISPOSITIVO BIOSENSOR GOD DA MARCA TESTLINE



Os dispositivos reflectométricos seguem os mesmos fundamentos dos biossensores de primeira geração, em que a glicose no plasma reage com a glicose oxidase presente na tira e o peróxido de hidrogênio gerado é monitorado. O peróxido de hidrogênio reage com a enzima peroxidase, oxida um corante reativo da tira de teste e a cor se desenvolve. A intensidade da cor é proporcional à concentração de glicose na amostra e é automaticamente convertido em concentração de glicose [25], seguindo o mesmo princípio do método de Trinder.

Para a medição quantitativa de glicose no sangue por meio de biossensores eletroquímicos já se fazem através de biossensores de segunda geração, em que as enzimas catalisam a conversão da glicose em ácido glucônico e a corrente gerada é usada para medir a concentração de glicose na amostra [25].

#### 1.1.1.4 Sensores não-enzimáticos

O controle de glicemia no sangue pode melhorar a qualidade de vida de pacientes com diabetes, permitindo uma melhor regularização dos episódios de hiper e hipoglicemia e, assim, evitar complicações fisiológicas, porém os dispositivos disponíveis no mercado atualmente utilizam sangue capilar para monitoramento, que pode provocar riscos de infecção, danos aos nervos e o desconforto de picar o dedo várias vezes por dia [26].

A busca para o desenvolvimento de dispositivos não-invasivos para a determinação de glicose se faz a décadas. Porém, nenhum dos dispositivos comerciais disponíveis oferece precisão suficiente para substituir os glicosímetros atuais, assim vem-se buscando novas tecnologias que exigem uma atualização contínua no estado de pesquisa [27].

O desenvolvimento de sensores não-enzimáticos de glicose vem crescendo recentemente, principalmente com o emprego de nanocompósitos. Um exemplo é o trabalho desenvolvido por Shahriary e colaboradores [28] que desenvolveram um sensor não-enzimático baseado em um eletrodo de carbono vítreo modificado com nano-hastes de Ag/Ag<sub>2</sub>O reforçado com nanotubos de carbono *multiwall* (Ag/Ag<sub>2</sub>O-f-MWCNTs). Os resultados obtidos foram bastante satisfatórios, com limite de detecção de 5,0  $\mu\text{mol L}^{-1}$  e intervalo de concentração de 0,5 a 12  $\text{mmol L}^{-1}$ , utilizando a amperometria. O sinal correspondente à glicose não sofre interferência na presença de ácido ascórbico, ácido úrico e íons cloreto em solução.

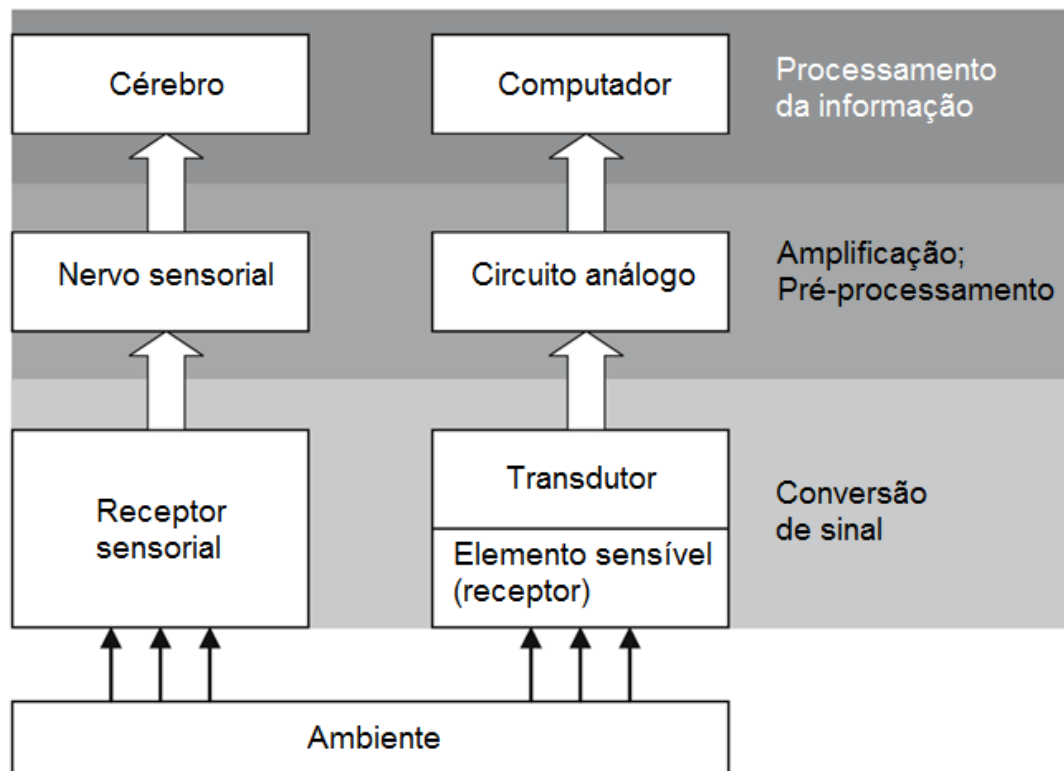
Outro trabalho no desenvolvimento de sensores não-enzimáticos para glicose é de Ye *et al.* [29]. Os autores relatam um sensor amperométrico para glicose baseado em CuO nanoagulhas / grafeno / nanofibras de carbono. O sensor apresentou uma alta atividade eletrocatalítica para a oxidação de glicose, com limite de detecção de 0,1  $\mu\text{mol L}^{-1}$ , e um intervalo linear útil de 1 a 5,3  $\text{mmol L}^{-1}$ , podendo ser usado para a quantificação da concentração de glicose em amostras reais de saliva.

## 1.2 SENSORES ELETROQUÍMICOS

Um sensor pode ser definido como “Um dispositivo que recebe um estímulo e responde com um sinal elétrico” [30].

Os sensores naturais, como aqueles encontrados em organismos vivos, geralmente respondem com sinais, com carácter eletroquímico; assim, veem-se muitas semelhanças entre os organismos vivos e máquinas quando se compara como sensores modernos e organismos vivos adquirem e processam sinais (Figura 6).

FIGURA 6 - PROCESSAMENTO DE SINAIS EM ORGANISMOS VIVOS E SENSORES



FONTE: Adaptado de FRADEN (2004) [30].

Em um organismo vivo, encontra-se um receptor que é o órgão sensível que está em contato direto com o ambiente. Em um sensor, essa parte do processamento geral é realizada em duas etapas: um receptor que responde a um estímulo ambiental, alterando algumas de suas propriedades inerentes; e um transdutor adjacente, onde a informação primária é transformada em sinais elétricos [30,31].

Frequentemente, sistemas de sensores modernos contêm peças adicionais para a amplificação ou condicionamento de sinal, composto pela rede de nervos em um sistema biológico, responsável pela transmissão dos pulsos elétricos [31].

No final da cadeia, encontra-se um microcomputador funcionando como o sistema nervoso central em um organismo vivo, que irá processar todos os sinais elétricos gerados e gerar a informação final [31].

Os sensores eletroquímicos são os mais versáteis e mais desenvolvidos do que quaisquer outros sensores químicos, sendo um dispositivo utilizado para a identificação ou quantificação de espécies de interesse em uma determinada

amostra, através da relação entre a quantidade desta espécie e um sinal gerado [30].

As técnicas eletroquímicas são baseadas nas alterações químicas causadas em um sistema por uma perturbação elétrica (corrente ou potencial) e/ou no monitoramento de uma propriedade elétrica (corrente, carga, potencial, etc.) e sua relação com fenômenos químicos [33,34].

Dependendo do modo de funcionamento os sensores eletroquímicos podem ser divididos em: sensores que medem um potencial elétrico (potenciométricos), que medem a corrente elétrica (amperométricos/voltamétricos), e sensores que se baseiam na medição de condutividade ou resistividade (condutométricos) [30].

A forma de perturbação e resposta pode variar de acordo com a técnica escolhida, geralmente destinada a aumentar a sensibilidade e seletividade do sensor. Idealmente, um sensor deve ser capaz de responder de forma contínua e reversível, sem consumir significativamente a amostra [32].

A utilização de medidas eletroquímicas para fins analíticos pode ter uma vasta gama de aplicações incluindo o monitoramento ambiental, controle de qualidade industrial, análise química e biomédica, entre outros [33]. Essa versatilidade vem sendo explorada significativamente nos últimos anos, tornando as técnicas eletroanalíticas uma ferramenta importante no desenvolvimento de novas metodologias com elevada sensibilidade, baixo custo (comparada com técnicas espectroscópicas ou cromatográficas), além da fácil adaptação a sistemas portáteis para análise em campo [34-37].

### 1.2.1 Modificação de eletrodos

Um eletrodo de trabalho utilizado como sensor eletroquímico deve apresentar certas propriedades e características como alta condutividade, estabilidade e uma ampla faixa de potencial de trabalho. Com o avanço no desenvolvimento destes dispositivos, outras características começaram a ser visadas: a seletividade e sensibilidade, considerando que o número de substâncias químicas desenvolvidas para as mais diversas áreas (como agricultura, fármacos e diagnósticos) vem aumentando gradualmente, tornando necessário o desenvolvimento de novos dispositivos [31,35].

Para atingir essas novas características e, assim, obter resultados mais favoráveis, podem ser incorporados às superfícies dos eletrodos outras espécies, com características e propriedades que permitam a melhora na resposta do sensor tanto em termos de sensibilidade, como também seletividade, gerando, assim, os Eletrodos Quimicamente Modificados (EQMs) [35].

A utilização de outras substâncias incorporadas à superfície eletródica pode trazer benefícios, como facilitar a transferência de elétrons em reações, originando melhoria no reconhecimento ou ampliação de sinais de corrente, ou podem atuar no sentido de promover uma pré-concentração seletiva do analito [33,35].

Além disso, os modificadores podem promover uma diminuição da energia de ativação de uma determinada reação redox, e assim gerar um efeito eletrocatalítico com a diminuição do sobrepotencial desta determinada reação. Esse efeito geralmente provoca um aumento na seletividade, permitindo trabalhar com diferentes valores de potenciais de oxidação ou redução. Pode haver, com a diminuição da energia de ativação, o aumento da resposta eletroanalítica, proporcionando que um maior número de moléculas sofram um processo redox, com melhoria na sensibilidade. Outra estratégia que pode ser utilizada é a restrição da permeação de espécies interferentes com o uso de membranas seletivas [33,35].

Existem várias técnicas de imobilização do modificador que podem ser escolhidas para ser empregado no eletrodo. Podem ser citados os métodos envolvendo a formação de ligações covalentes, realizando reações entre os grupos funcionais existentes na superfície do eletrodo e no modificador; uso de filmes poliméricos, que consiste no recobrimento da superfície com polímeros semipermeáveis, para passagem do analito, ou condutores, para aumentar o sinal e a transferência de elétrons; uso de compósitos, realizando a combinação de materiais distintos que trazem novas características diferentes dos materiais isolados; e, adsorção, incorporação simples do modificador pela sua adsorção na superfície do eletrodo [38].

O processo de modificação pela nanofabricação é outro procedimento que vem sendo utilizado, em que é realizada a arquitetura do eletrodo em nanoescala, usando nanomateriais que apresentam características diferentes

destes materiais em macroescala. Podem-se aplicar métodos de modelagem, modificação orgânica em monocamadas ou multicamadas, envolvendo camadas híbridas de materiais orgânicos e nanomateriais [39].

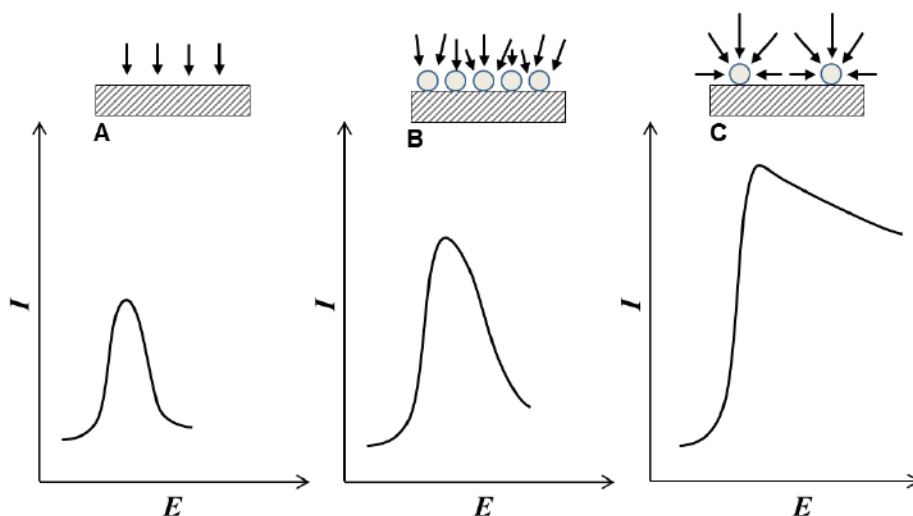
A escolha do material suporte (a superfície que será modificada) é um aspecto de extrema relevância na preparação de um EQM. Este substrato deve apresentar características eletroquímicas apropriadas e também ser adequado para o método de imobilização selecionado [40].

### 1.2.2 Uso de nanopartículas em eletroanalítica

Ao se empregar nanopartículas para a modificação de eletrodos, podemos agregar à superfície características e propriedades destas espécies, de modo que cada partícula isolada pode atuar como um “nanoeletrodo”, amplificando o sinal-resposta [41]. Um dos motivos para esta melhora, além das próprias características das nanopartículas, está na melhora de transporte de massa devido à grande área superficial conferida à superfície eletródica. Assim, mais átomos ou moléculas do analito têm acesso, facilitando o transporte difusional.

Este processo pode ser melhor visualizado na Figura 7, em que (A) é apresentada uma superfície plana onde ocorre uma aproximação plana e frontal do analito; em (B), uma superfície modificada com um excesso de nanopartículas, pois como elas estão muito próximas ocorre um impedimento estérico pela própria partícula da vizinhança; e por último em (C), um eletrodo modificado com uma baixa concentração de nanopartículas, que, diferente do caso anterior, o analito tem um acesso muito mais fácil a quase toda superfície deste “nanoeletrodo” [41]. O eixo de potencial não reflete deslocamento de energia, apenas serve para ilustrar o efeito sobre o perfil da corrente elétrica.

FIGURA 7 - COMPORTAMENTO VOLTAMÉTRICO GENÉRICO PELO TRANSPORTE DE MASSA PARA: A) ELETRODO CONVENCIONAL B) ELETRODO BASE ALTAMENTE RECOBERTO POR NANOPARTÍCULAS C) ELETRODO BASE POUCO RECOBERTO POR NANOPARTÍCULAS



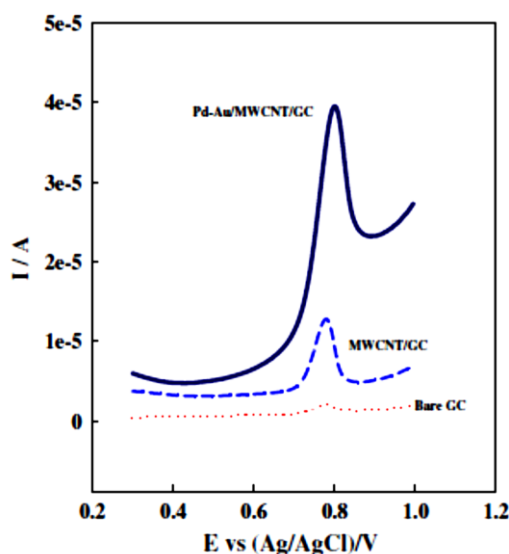
FONTE: Adaptado de CAMPBELL; COMPTON (2009) [41].

A busca e aplicação destes materiais em sensores eletroquímicos se deve à uma somatória de diferentes propriedades como a melhora na relação sinal/ruído, pois as nanopartículas oferecem uma melhor linearidade da linha base, proporcionando limites de detecção e quantificação menores [4-5]. Outro fator apresentado que aumenta seu emprego em sensores é a alta atividade catalítica das nanopartículas, atribuída à elevada energia superficial, uma vez que os átomos da superfície das partículas possuem coordenação incompleta, apresentando alta reatividade; como também, a possível aparição de planos cristalinos, que podem ser mais reativos, inexistentes no material *bulk* [41-42].

Esta significativa melhora que as nanopartículas e nanomateriais oferecem pode ser observada no trabalho de Shahrokhian *et al.* [43], que aplicaram nanopartículas de paládio e ouro decoradas em nanotubos de carbono para a determinação de ceftazidima. Através do estudo comparativo por voltametria linear, que ao se empregar o nanocompósito o aumento de sinal foi extremamente significativo, como observado na Figura 8, se comparado com o eletrodo de carbono vítreo e mesmo com o eletrodo modificado apenas com nanotubos de carbono, apresentando um sinal 4 vezes maior devido a presença das nanopartículas.



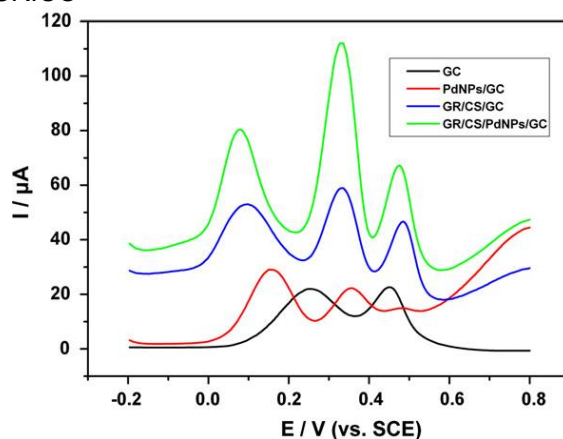
FIGURA 8 - VOLTAMETRIA LINEAR DE  $10 \mu\text{mol L}^{-1}$  DE CEFTAZIDIMA EM ELETRODOS DE CARBONO VÍTREO, MODIFICADO COM NANOTUBOS DE CARBONO, E MODIFICADO COM NANOPARTÍCULAS DE PALÁDIO-OURO DECORADAS EM NANOTUBOS DE CARBONO



FONTE: Adaptado de SHAHROKHIAN; SALIMIAN; RASTGAR (2014) [43].

Wang e colaboradores [44] que utilizaram um eletrodo de carbono vítreo modificado com nanopartículas de paládio, grafeno e quitosana para determinar simultaneamente ácido ascórbico, dopamina e ácido úrico. Observando-se a Figura 9 é pode-se inferir a grande vantagem da aplicação de nanomateriais para a determinação de três diferentes substâncias com potenciais de oxidação muito próximos, não sendo possíveis suas determinações simultâneas sem seu emprego.

FIGURA 9 - VOLTAMETRIA DE PULSO DIFERENCIAL PARA ELETRODO DE CARBONO VÍTREO, ELETRODOS DE CARBONO VÍTREO MODIFICADOS COM NANOPARTÍCULAS DE PALÁDIO, GRAFENO E QUITOSANA, E NANOPARTÍCULAS DE PALÁDIO/GRAFENO/QUITOSANA, CONTENDO  $3 \text{ mmol L}^{-1}$  DE ÁCIDO ASCÓRBICO,  $0,5 \text{ mmol L}^{-1}$  DE DOPAMINA E  $1 \text{ mmol L}^{-1}$  DE ÁCIDO ÚRICO



FONTE: Adaptado de WANG *et al.* (2013) [44].

### 1.2.3 Prata e nanopartículas

A prata metálica é um pouco mais dura do que o ouro e é muito dúctil e maleável. Prata pura tem a maior condutividade elétrica e térmica de todos os metais e possui a menor resistência de contato [45]. O poder catalítico da prata quando utilizada como eletrodo já é bastante conhecido. Podemos encontrar relatos na literatura utilizando eletrodos a base de prata para a determinação de diversas espécies, tais como halogenetos, compostos tóxicos, de compostos orgânicos e biomoléculas [41].

Welch *et al.* [46] realizaram a deposição eletroquímica de nanopartículas de prata sobre um eletrodo de carbono que foi em seguida utilizado para a determinação voltamétrica de peróxido de hidrogênio. O procedimento proposto alcançou valores de limite de detecção da ordem de  $2,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$  e sensibilidade cinco vezes maior que a observada em um macroeletrodo de prata.

Oliveira e colaboradores [47] desenvolveram um método para determinação amperométrica de isoniazida em um sistema de análise por injeção em fluxo, utilizando um eletrodo impresso de carbono modificado com hexacianoferrato formado sobre nanopartículas de prata (NPAg-HCF). Utilizando este procedimento foi possível determinar isoniazida em um intervalo de concentração de  $5,0 \times 10^{-6}$  a  $5,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$  com um limite de detecção de  $2,6 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ .

Outro exemplo de determinação de espécies de interesse farmacêutico é descrito pelo trabalho de Karadas *et al.* [48] que modificaram um eletrodo de carbono vítreo com nanotubos de carbono e NPAg para a determinação voltamétrica de zolmitriptano em comprimidos e amostras de urina humana. O procedimento proposto foi adequado para determinações no intervalo linear de concentração de zolmitriptano de  $1,00 \times 10^{-8}$  a  $8,00 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ , com um limite de detecção de  $1,47 \times 10^{-9} \text{ mol L}^{-1}$ .

## 1.3 NANOPARTÍCULAS E NANOCOMPÓSITOS

Nanopartículas são aglomerados cristalinos compostos de algumas centenas a milhares de átomos, organizados em escala nanométrica em geral, de dimensões de 1 a 100 nm [4,41].

Quando o tamanho de uma partícula sólida decresce, esta tende a apresentar propriedades diferentes do material macroscópico, como estrutura, propriedades termodinâmicas, eletrônicas, eletromagnéticas, características espectroscópicas e químicas, pois se apresentam abaixo de seu tamanho crítico [4,6,41].

Este efeito, conhecido como “efeito de tamanho”, pode ser descrito por três fatores. Em primeiro lugar, o tamanho das nanopartículas é comparável com o raio de Bohr de um éxciton, ocasionando também o confinamento quântico, o que determina as suas propriedades ópticas, luminescentes e redox. Devido ao seu pequeno tamanho, os efeitos da tensão superficial aumentam, fazendo com que os átomos da superfície sejam muito ativos, e determina uma considerável contribuição para as características termodinâmicas de sólidos. Em terceiro lugar, o tamanho das nanopartículas em si é também comparável ao de moléculas, podendo agir e interagir como tais. A combinação desses fatores compõe a cinética dos processos químicos que envolve cada nanopartícula [7].

Deve-se levar em consideração este efeito de tamanho para um material poder ser classificado como nanomaterial, pois não basta um material estar em escala nanométrica, mas apresentar pelo menos uma propriedade diferente do seu estado “bulk”, assim abaixo do seu ponto crítico [5].

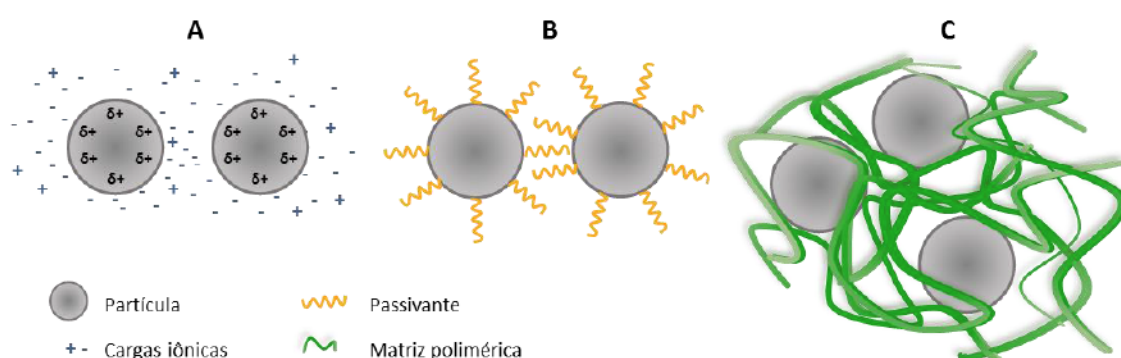
Em função do seu tamanho reduzido, as nanopartículas possuem altos valores de energia superficial, devido à coordenação incompleta dos átomos superficiais, com alta energia de coesão, levando a aglomeração das partículas, aumentando, por consequência, o seu tamanho. A estabilização é uma etapa crucial para a obtenção de nanomateriais, sendo o controle de tamanho na síntese um processo cineticamente orientado, em que, a razão entre a taxa de nucleação e de crescimento, é responsável pelo tamanho das nanopartículas final [5,7]

A estabilização das nanopartículas pode ser alcançada através de interação eletrostática (Figura 10A), na qual a estabilização ocorre por meio de cargas na superfície das nanopartículas ou por impedimento estérico (Figura 10B), em que são ancoradas moléculas, geralmente orgânicas, à superfície das nanopartículas, chamadas de passivantes [7].

Além destes dois modos de estabilização, pode-se usar polímeros adsorvidos sobre as nanopartículas (Figura 10C), que revelam uma capacidade

de estabilização. Os mecanismos de estabilização não estão esclarecidos, porque certo número de processos ocorre e uma variedade de fatores é responsável pela estabilidade das nanopartículas. No entanto, o uso de compostos de alta massa molar como estabilizantes pode produzir nanocompósitos, como os metalopolímeros, já na fase de síntese de nanopartículas, formando materiais termodinamicamente estáveis [7].

FIGURA 10 - DIAGRAMA DE ESTABILIZAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS (A) ESTABILIZAÇÃO ELETROSTÁTICA, (B) A ESTABILIZAÇÃO ESTÉRICA E (C) REGIÃO DE ALTA CONCENTRAÇÃO DE POLÍMERO



Existem várias técnicas de síntese de nanopartículas, que podem ser divididas em métodos físicos (*bulk down*), onde um material *bulk* é manipulado mecanicamente até atingir tamanho nanométrico, e em métodos químicos (*bottom up*), onde o material é crescido com controle atômico-molecular [8].

As estratégias predominantemente empregadas para a síntese de nanopartículas metálicas são a redução química ou eletroquímica de sais do metal precursor em solução, *bottom up*. Procedimentos termolítico, fotolítico, radiolítico ou sonoquímico completam o amplo espectro de vias de síntese para as partículas nanométricas [49,50].

### 1.3.1 Nanocompósitos inorgânico-orgânico

Um nanocompósito pode ser definido como um material resultante da união de dois ou mais componentes, sendo que pelo menos um dos materiais empregados está em escala nanométrica [4]. A possibilidade de combinar as diferentes propriedades de diversos substratos, sendo possível guiar um

caminho para a síntese de um novo material com comportamento ajustável, conferindo propriedades físicas ou químicas distintas de seus componentes isolados é algo bastante desejável na busca de modificadores de eletrodos.

Os nanocompósitos do tipo inorgânico-orgânico, em especial os nanocompósitos metalopoliméricos, têm chamado bastante atenção nos últimos anos devido ao fato de que as nanopartículas melhoram as propriedades da matriz polimérica, enquanto esta oferece funcionalidades flexíveis que garantem o crescimento e distribuição das partículas metálicas [7]. Especialmente para aplicações eletroanalíticas, o emprego de polímeros eletroativos é adequado como matriz para as nanopartículas metálicas, pois facilita a transferência de carga na interface eletrodo-solução [51].

Estes nanocompósitos são constituídos por uma matriz polimérica com nanopartículas metálicas aleatoriamente distribuídas em sua estrutura. O método de obtenção não difere formalmente das abordagens tradicionais para a síntese de nanopartículas sem polímeros [7].

Nanopartículas em tais sistemas encontram-se como uma fase dispersa, enquanto que a matriz de polímero serve como um meio de dispersão, podendo as nanopartículas ser microencapsuladas pelo polímero [7,8].

O polímero protetor pode interagir com as nanopartículas de duas maneiras. Na primeira, pressupõe-se que as macromoléculas se fixem por uma adsorção física simples na superfície da partícula, induzidas por forças de van der Waals, interações dipolares e/ou ligações de hidrogênio [7,8].

O segundo modo é baseado na quimissorção, de modo que ocorre a interação dos grupos polares do polímero com as nanopartículas. Para tanto, é uma condição essencial que o polímero deva conter grupos polares, que interagem com os átomos da superfície do metal. Assim, quanto maior a capacidade de doar elétrons dos grupos funcionais do polímero, mais forte é a sua adesão às partículas da fase dispersa. Durante a quimissorção, cadeias do polímero podem formar ligações iônicas, covalentes ou de coordenação com os átomos da camada de superfície do metal que aumenta a força de sorção do polímero [7].

A ligação de polímeros à superfície das nanopartículas para obtenção dos nanocompósitos do tipo *core-shell* (caroço-casca) pode ser obtida pela polimerização por meio de um iniciador imobilizado à superfície da nanopartícula

(*grafting-from*), pela reação do monômero com grupos ativos na superfície das partículas (*grafting-to*), ou por técnicas de encapsulação em dispersões [8,52].

Um dos problemas principais na formação de *shell* de polímero nas superfícies das partículas inorgânicas é a incompatibilidade química da superfície e dos monômeros. A polimerização ocorre principalmente na superfície das partículas não modificadas, devido à adsorção do monômero na superfície, seguida por polimerização da camada adsorvida. [52].

A polimerização em microemulsões é, provavelmente, a técnica mais promissora e versátil para a síntese de uma grande variedade de nanopartículas com invólucros poliméricos, porque oferece a possibilidade de controlar com precisão o tamanho do núcleo e do invólucro polimérico formado [52].

Muitas aplicações interessantes do ponto de vista tecnológico são relatadas na literatura utilizando este tipo de material em diversas áreas, por exemplo, na química analítica (cromatografia), a tecnologia de separação (troca de íons), catálise, bioquímica, medicina, entre outras [53].

Phongphut *et al.* [54] descrevem a fabricação de um biossensor impresso modificado com um nanocompósito de Au/PEDOT:PSS e uma mistura de enzimas (lipase GK, GPO, ATP) e 4-aminoantipirina, para determinação de triglicerídeos. O eletrodo impresso atingiu uma faixa linear de 0,1 a 6,0 mmol L<sup>-1</sup> e limite de detecção de 0,089 mmol L<sup>-1</sup> para trioleína em soro sanguíneo.

Nie e colaboradores [55] desenvolveram um nanocompósito para a determinação de vitamina B<sub>2</sub>, vitamina B<sub>6</sub> e vitamina C. Por uma eletrodeposição simples e direta dos precursores sobre um eletrodo de carbono vítreo sintetizaram um nanomaterial composto de PEDOT e nanopartículas de zircônia (PEDOT/ZrO<sub>2</sub>NPs). Usando voltametria de pulso diferencial foram obtidos limites de detecção de 0,012 µmol L<sup>-1</sup>, 0,20 µmol L<sup>-1</sup> e 0,45 µmol L<sup>-1</sup> para B<sub>2</sub>, B<sub>6</sub> e C, respectivamente, com boa reprodutibilidade e estabilidade a longo prazo.

Outro trabalho aplicando nanocompósitos metalopoliméricos para o desenvolvimento de sensores é de Rezaei *et al.* [56], que sintetizaram eletroquimicamente sobre um grafite escolar um polímero molecularmente impresso (MIP), composto por polipirrol/sol-gel/AuNPs para determinação de lorazepam. Devido o lorazepam ser eletroquimicamente inerte, usou-se o [Fe(CN)<sub>6</sub>]<sup>3-/4-</sup> como sonda eletroativa. Com o impedimento estérico ao ligar-se o analito ao MIP, ocorre uma queda de sinal, sendo esta relacionada com a

concentração do fármaco. O sensor mostrou duas regiões de concentração linear de 0,2-2,0 nmol L<sup>-1</sup> e 2,0-20,0 nmol L<sup>-1</sup>, com o limite de detecção de 0,09 nmol L<sup>-1</sup>. O método proposto foi concebido com sucesso para a determinação de lorazepam em amostras reais (comprimido, plasma e urina).

#### 1.4 MICROEMULSÕES

As microemulsões são sistemas coloidais cuja característica básica é a dispersão de uma fase aquosa em um solvente orgânico imiscível com água (geralmente chamado de “óleo”). A presença de uma substância anfifílica ou surfactante é necessária para manter a estabilidade do sistema micelar, podendo ser usado muitas vezes um cossurfactante (exemplo, um álcool). Dentre outras funções, o cossurfactante é usado para reduzir a rigidez da camada de surfactante e assim evitar a formação de gel como mesofases [9,53]. As micelas formadas na microemulsão podem ser usadas como nanoreatores para realizar reações químicas, como para a síntese de nanopartículas [57].

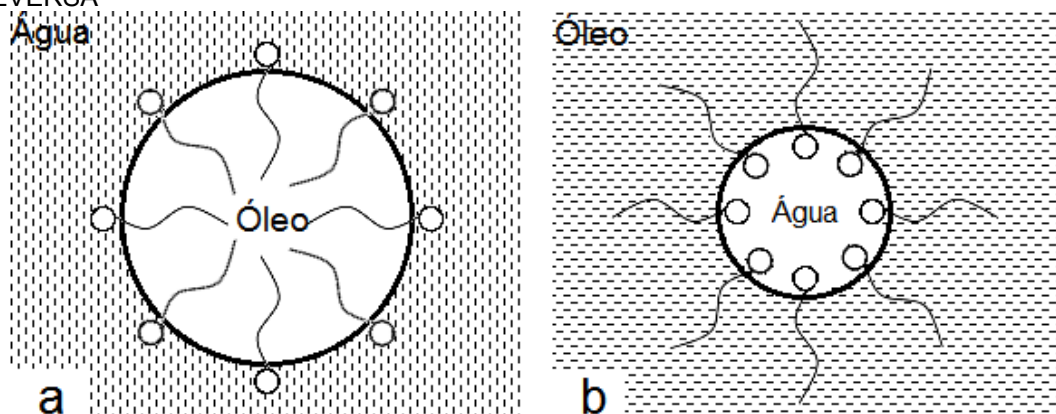
Em contraste com as emulsões normais, microemulsões se formam mediante simples mistura dos componentes e não exigem condições de alto cisalhamento, geralmente utilizados na formação de emulsões normais [9].

O sistema de microemulsão é termodinamicamente estável e, em um sistema isotrópico, o tamanho e a forma das micelas é determinada pela composição do sistema, a partir das interações intermoleculares. A fase dispersa consiste em gotículas monodispersas de tamanhos de 5 - 100 nm, que confere ao sistema uma aparência transparente/translúcida [58].

Existem dois tipos básicos de microemulsões, a microemulsão direta, ou somente microemulsão, (Figura 11a), em que o óleo está disperso em água (O/A), na parte interna da micela; e a microemulsão reversa (Figura 11b), de forma contrária, água dispersa em óleo, (A/O) [9].



FIGURA 11 - REPRESENTAÇÃO DAS MICELAS EM MICROEMULSÃO (A) DIRETA E (B) REVERSA



O tamanho das micelas pode ser controlado em escala nanométrica de forma muito precisa apenas mudando a razão  $W_0 = [\text{água}] / [\text{surfactante}]$ , [9,53]. Os sistemas emulsionados podem ser classificados de acordo com o valor de  $W_0$ , em que valores menores que 15, o sistema é denominado de micela reversa, e para maiores de 15, o sistema é denominado de microemulsão [53]. Para a microemulsão reversa, quanto menor o  $W_0$  menor será o tamanho da micela.

As micelas formadas na microemulsão podem ser usadas como nanoreatores para realizar reações químicas, como para a síntese de nanopartículas [57].

#### 1.4.1 Microemulsão para síntese de nanopartículas

O uso de microemulsão reversa para a síntese de nanomateriais foi se demonstrando como sendo um método viável para a produção de uma grande variedade de nanopartículas metálicas e de óxido metálicos, com tamanhos de partículas monodispersas. A microemulsão permite a formação de micelas com um único volume encapsulado de tamanho controlável, em que pode se desenvolver reações para a formação de compostos em escala nanométrica [53].

As micelas proporcionam um efeito tipo “gaiola” que limita a nucleação das partículas, o crescimento e a aglomeração. É possível controlar, em alguns casos, o tamanho das nanopartículas controlando o tamanho das nanogotas, através do  $W_0$  e da concentração dos precursores. A formação de nanopartículas

é controlada pela distribuição de reagente nas nanogotas e pela dinâmica de troca intermicelar [59,60].

A reação ocorre dentro da micela, é como se finitos nanorreatores estivessem reagindo do mesmo modo e ao mesmo tempo, propiciando assim o controle rigoroso do tamanho e da distribuição de tamanhos da nanopartículas [60].

Devido esse grande controle que a microemulsão pode oferecer, esta técnica vem sendo aplicada na síntese de nanomateriais aplicados à medicina [61]. Como no trabalho de Deng *et al.* [62], em que realizam a síntese de um nanocompósito com nanopartículas de ferro supermagnéticas recobertas com poliacrilamida-metacrilato. Este encapsulamento foi realizado em um sistema de microemulsão reversa de água/AOT/tolueno sobre atmosfera de nitrogênio. Segundo os autores, tais partículas poliméricas magnéticas preparadas usando este método, podem ser usadas em *drug delivery area*, para algumas drogas hidrofílicas anticâncer, tais como adriamicina, que, encapsulada ou combinados, podem ser absorvidas pelas partículas.

Há também a potencialidade de aplicação no desenvolvimento de sensores e biossensores, dispositivos eletrônicos moleculares os nanocompósitos de nanopartículas metálicas e polímeros condutores. Sun *et al.* [63] realizaram a polimerização em microemulsão para sintetizar um nanocompósito Au/polipirrol, por oxidação direta do pirrol com  $\text{HAuCl}_4$ . Dodecil sulfato de sódio e n-pentanol, é usado como o surfactante e cossurfactante, respectivamente. As partículas de nanocompósitos obtidas apresentaram uma estrutura de tetraedro, com uma condutividade de  $12,6 \pm 0,06 \text{ S cm}^{-1}$ , quase quatro vezes mais elevada que grânulos de polipirrol puros.

Li *et al.* [64] também se utilizaram da oxi-redução direta do metal pelo polímero para sintetizar um nanocompósito de paládio-polianilina em um sistema de microemulsão reversa água/DBSA/butanol/hexano. O nanocompósito possui uma condutividade de  $\sim 9 \text{ S cm}^{-1}$ , com a possibilidade de emprego em inúmeros campos da ciência e tecnologia.

Visando a aplicação eletroquímica de nanomateriais e, assim atingir uma maior condutividade elétrica e eletrocatalítica, pode fazer-se a síntese de nanopartículas por este método, pois não há necessidade do uso de passivantes

para prevenir a coagulação das partículas, sendo que estas estarão protegidas pelo surfactante empregado e pela própria micela [9].

Portanto, busca-se um novo nanomaterial confeccionado para a utilização eletroanalítica como modificador de eletrodos, almejando os benefícios de nanopartículas metálicas de prata com suas propriedades catalíticas. Para a estabilização destas nanopartículas, usou-se apenas do polipirrol, um polímero condutor, para potencializar a transferência de elétrons e obter processos eletrocatalíticos mais favorecidos e, assim, atingir moléculas orgânicas de difícil oxidação, para o desenvolvimento de um sensor eletroquímico não-enzimático para glicose e sua aplicação em meios não invasivos, como a saliva.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GERAL

Sintetizar e caracterizar nanocompósitos formados entre prata e polipirrol, para posterior aplicação como modificador de eletrodos, visando a determinação eletroquímica não-enzimática de glicose.

### 2.2 ETAPAS PROPOSTAS

- Desenvolver a síntese de nanocompósitos de prata e polipirrol através de microemulsão reversa;
- Otimizar dos parâmetros da síntese (tempo de reação e razão molar Ag:Py) através de medidas eletroquímicas;
- Caracterizar eletroquimicamente e estrutural/morfológicamente os nanocompósitos obtidos;
- Desenvolver metodologia analítica para determinação de glicose utilizando o nanocompósito como modificador de eletrodo;
- Aplicar dos sensores desenvolvidos na determinação de glicose em salivas artificiais.

### 3 MATERIAIS E MÉTODOS

#### 3.1 SÍNTESE DE NANOCOMPÓSITOS PRATA E POLIPIRROL (NCAgPPy)

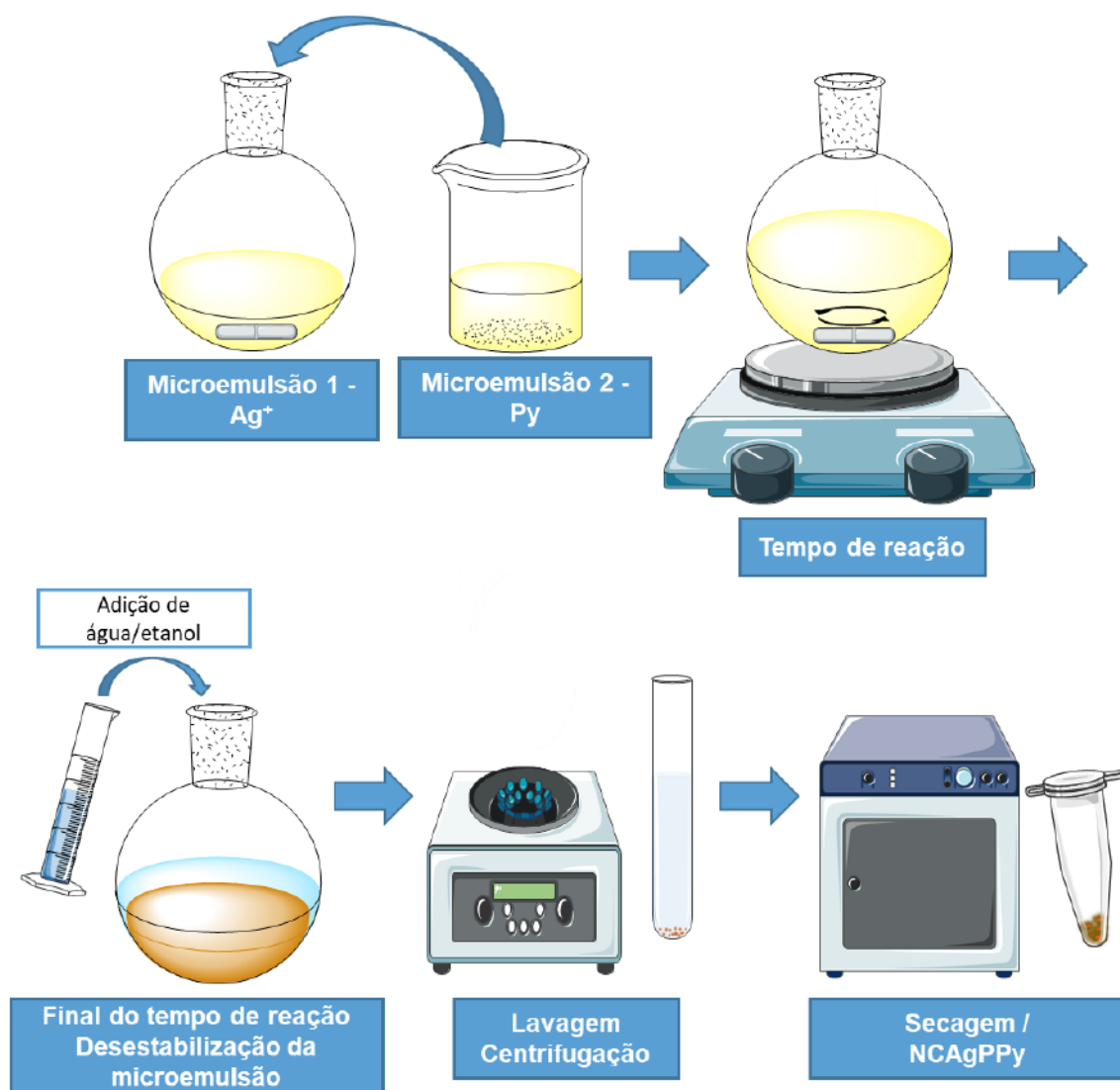
##### 3.1.1 Método de microemulsão reversa

A síntese dos nanocompósitos de prata e polipirrol (NCAgPPy) foi realizada utilizando o método de microemulsão reversa. A fase orgânica foi composta por *n*-hexano e como surfactante e cossurfactante, o dodecilsulfato de sódio (DSS) e butanol, respectivamente. A fase aquosa foi composta por uma solução do sal metálico precursor ( $\text{AgNO}_3$ ) ou do monômero (pirrol - Py) dispersos em água ultrapura. Fixou-se a razão água:surfactante ( $W_0$ ) em 5.

Para a realização da síntese, foram preparadas duas microemulsões separadas, uma contendo o precursor metálico com  $0,02 \text{ mol L}^{-1}$  e outra com o monômero com  $0,04 \text{ mol L}^{-1}$  (1:2) e deixadas sob agitação até atingir uma solução límpida (indicativo da formação de microemulsão). Após a formação das microemulsões, adicionou-se uma sobre a outra, permanecendo sob agitação.

Com o término do tempo de reação, adicionou-se uma mistura de 20 mL de água e 20 mL de etanol, para a desestabilização das micelas e término da reação. Separada a fase orgânica, a fase aquosa foi centrifugada a 3000 RPM por 15 min para precipitação do nanocompósito. O precipitado foi lavado com etanol e centrifugado por mais três vezes, seco e armazenado em dessecador a temperatura ambiente. O procedimento pode ser ilustrado pela seguinte Figura 12.

FIGURA 12 – ESQUEMA DE PREPARAÇÃO DE PREPARAÇÃO DOS NANOCOMPÓSITOS POR MICROEMULSÃO REVERSA



### 3.1.2 Otimização do tempo de reação

Para o estudo de tempo de reação fixou-se a razão molar Ag:Py em 1:2 e retirou-se alíquotas de uma mesma microemulsão em 30 s, 60 s, 120 s, 180 s e 300 s. A nomenclatura das amostras foi disposta no seguinte formato: NCAgPPyT-X:Y, onde T é o tempo de reação, e X e Y representam a razão molar prata:pirrol.

### 3.1.3 Otimização da razão molar Ag:Py

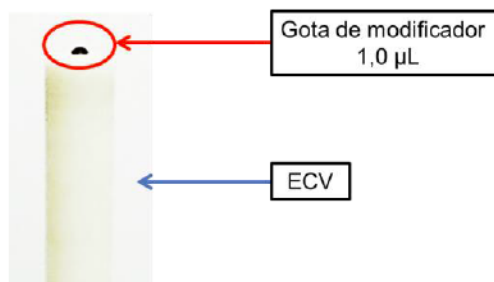
Após determinado o melhor tempo de reação, variou-se os parâmetros de razão molar das soluções de nitrato de prata e pirrol em 1:8 1:4, 1:2, 1:1 e 1:0,5.

### 3.1.4 Otimização eletroquímica dos diferentes nanocompósitos preparados

#### 3.1.4.1 Modificação do Eletrodo e Medidas Eletroquímicas

Visando a aplicação do nanomaterial obtido como modificador de eletrodos para determinação de glicose, para cada síntese realizada variando-se os parâmetros supracitados, modificou-se um eletrodo de carbono vítreo (ECV, área geométrica =  $0,03\text{cm}^2$ ) por *drop-casting*, com  $3,0\text{ }\mu\text{L}$  da dispersão de  $1,0\text{ mg mL}^{-1}$  do NCAgPPy, em água. Para a modificação do ECV, depositou-se  $1,0\text{ }\mu\text{L}$  das diferentes dispersões três vezes, com o auxílio de uma micropipeta de volume variável pipet-lite de  $0,50$  a  $2,00\text{ }\mu\text{L}$ , conforme Figura 12.

FIGURA 13 - MODIFICAÇÃO DO ELETRODO DE CARBONO VÍTREO (ECV) COM  $1,0\text{ }\mu\text{L}$  – 3 VEZES, DIFERENTES DISPERSÕES DE  $1,0\text{ mg mL}^{-1}$  DO NCAgPPy, EM ÁGUA



As medidas eletroquímicas foram realizadas em um potenciostato/galvanostato  $\mu\text{Autolab}^{\text{®}}$  Type III e a coleta de dados obtida com o software GPES 4.9 EcoChemie $^{\text{®}}$ . Como eletrodos de referência e auxiliar foram utilizados um eletrodo de Ag/AgCl ( $\text{KCl } 3,0\text{ mol L}^{-1}$ ) e um eletrodo de platina, respectivamente.

### 3.1.4.2 Comportamento eletroquímico do EQM na presença de glicose

O comportamento eletroquímico dos eletrodos construídos foi avaliado com base nos resultados obtidos para a oxidação da glicose. Antes das medidas em solução contendo o analito, cada eletrodo foi submetido a um pré-tratamento que consistiu em medidas de voltametria cíclica (VC) por 130 ciclos em meio de NaOH 0,1 mol L<sup>-1</sup>, em um intervalo de potencial de -0,3 V a 0,9 V (vs. Ag/AgCl) a uma velocidade de varredura de 100 mV s<sup>-1</sup>. Para cada eletrodo avaliado foi construída uma curva analítica (medidas de voltametria cíclica em meio de NaOH 0,1 mol L<sup>-1</sup>) a partir dos sinais de corrente de pico anódico gerados para a oxidação da glicose ( $E_{pa} = 0,61$  V) no intervalo de concentração de  $1,0 \times 10^{-4}$  a  $1,0 \times 10^{-2}$  mol L<sup>-1</sup>. O parâmetro adotado para a escolha do melhor nanocompósito foi a sensibilidade (*slope*) obtida em cada uma das curvas. Os ensaios foram realizados em triplicatas de uma mesma síntese e para cada réplica do nanocompósito, foram realizadas três curvas analíticas.

### 3.1.4.3 Estimativa da área eletroativa

Aplicando-se a relação de Faraday entre a carga de 1 mol de elétrons e a carga gerada em um processo eletroquímico conhecido, é possível determinar a quantidade de mols da espécie eletroativa. Assim, após o pré-tratamento, realizou-se medidas de voltametria cíclica, com velocidade de varredura de 5 mV s<sup>-1</sup>, e estimou-se a área eletroativa baseada no processo de redução do Ag<sub>2</sub>O para Ag<sup>0</sup> (pico em aproximadamente 0,05 V).

## 3.2 CARACTERIZAÇÃO ESTRUTURAL E MORFOLÓGICA DOS NANOCOMPÓSITOS DE PRATA E POLIPIRROL (NCAgPPy)

### 3.2.1 Caracterização por Microscopia Eletrônica de Transmissão

Aplicou-se a técnica de Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET) para determinar-se a morfologia dos NCAgPPy, como também o diâmetro médio e a distribuição de tamanho. Uma gota da dispersão de 1,0 mg mL<sup>-1</sup> dos NCAgPPy foi aplicada sobre grades de cobre recobertas com filme fino de carbono. As imagens foram realizadas no equipamento JEOL JEM 1200, do



Centro de Microscopia Eletrônica (CME) e o aparelho foi operado com voltagem de 120 kV.

### 3.2.2 Caracterização por Microscopia Eletrônica de Varredura

Realizou-se imagens de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) para avaliar-se a modificação dos eletrodos de carbono vítreo com o NCAgPPy. Realizou-se o mesmo procedimento de modificação de eletrodo, porém sobre um substrato de vidro. As imagens foram realizadas no equipamento JEOL JEM 1200, do Centro de Microscopia Eletrônica (CME) e o aparelho foi operado com voltagem de 30 kV.

### 3.2.3 Caracterização por Espectroscopia na Região do Infravermelho

Para verificar a presença do polipirrol no NCAgPPy, realizou-se medidas através da técnica Espectroscopia na Região do Infravermelho por Transformada de Fourier. O nanocompósito em pó, após processo de lavagem e secagem foi homogeneizado com KBr, previamente seco, e prensado para formar uma pastilha. Para a realização das medidas utilizou-se um espectrofotômetro BOMEN, disponibilizado no Departamento de Química. Foram feitos 64 *scans* de 4000  $\text{cm}^{-1}$  a 400  $\text{cm}^{-1}$ .

### 3.2.4 Caracterização estrutural por difração de raio-X

Para verificar a forma estrutural dos NCAgPPy, realizou-se medidas através da técnica de difração de raio-X. Uma suspensão do nanocompósito foi depositada em um substrato de vidro e, após secagem, submetido às análises para a obtenção do difratograma da amostra. Para a realização das medidas utilizou-se um Difratômetro de Raio-X Shimadzu XRD-6000, disponibilizado no laboratório multiusuários do departamento de química. O aparelho foi operado aplicando radiação  $\text{CuK}\alpha$  ( $\lambda = 1,5418 \text{ \AA}$ ), operando com voltagem de 40 KV e corrente de 30 mA.

### 3.2.5 Caracterização por Análise Termogravimétrica

Para verificar a porcentagem mássica de material inorgânico e orgânico do nanocompósito presença do polipirrol no NCAgPPy, realizou-se medidas de Análise Termogravimétrica (ATG). Os resultados de ATG foram obtidos em um equipamento Netzsch STA 409 em atmosfera de ar sintético, com velocidade de aquecimento de  $10^{\circ} \text{ min}^{-1}$  e a amostra acondicionada, na forma de pó, em cadinho de alumina.

### 3.3 DETERMINAÇÃO CRONOAMPEROMÉTRICA DE GLICOSE EMPREGANDO O EQM COM O NCAgPPy

Após otimizado o procedimento de síntese do NCAgPPy com base nas medidas eletroquímicas realizadas, empregou-se um EQM com este nanocompósito para a determinação cronoamperométrica de glicose. Para tal, parâmetros como potencial aplicado e o volume da suspensão do nanocompósito adicionado à superfície do eletrodo de trabalho foram avaliados a fim de se obter a melhor resposta em termos de sensibilidade e seletividade.

#### 3.3.1 Estudo do potencial aplicado

Modificou-se o ECV com  $3,0 \mu\text{L}$  da dispersão  $1,0 \text{ mg mL}^{-1}$  do NCAgPPy60-1:4, em água. Após pré-tratamento com 130 ciclos (medidas de VC em meio de NaOH  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ ), variou-se o potencial aplicado ao eletrodo de trabalho no intervalo de  $0,60$  a  $0,95 \text{ V}$  (vs. Ag/AgCl) registrando os valores de corrente gerados em função do tempo para concentrações de glicose no intervalo de  $1,0 \times 10^{-4}$  a  $1,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ . Para cada valor de potencial realizou-se curvas analíticas em triplicata.

#### 3.3.2 Estudo do volume da suspensão de NCAgPPy na superfície do eletrodo

Modificou-se o ECV com volumes diferentes ( $3,0 \mu\text{L}$ ,  $4,0 \mu\text{L}$ ,  $5,0 \mu\text{L}$  e  $6,0 \mu\text{L}$ ) da dispersão de  $1,0 \text{ mg mL}^{-1}$  do NCAgPPy60-1:4, em água. Após o pré-tratamento, foram registrados cronoamperogramas ( $E_{\text{aplicado}} = 0,90 \text{ V}$  vs.

Ag/AgCl) para adições de glicose no intervalo de concentração de  $1,0 \times 10^{-4}$  a  $1,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ .

### 3.3.3 Determinação de glicose em saliva sintética

Com os parâmetros para determinação cronoamperométrica otimizados, realizou-se o estudo de adição e recuperação em três níveis de concentração de glicose em saliva artificial (30, 50 e 80 mmol L<sup>-1</sup> de glicose). A saliva artificial utilizada foi a de Saliva Artificial de Gal e Fovet (SAGF) [65], sua composição é descrita na Tabela 1, sendo o pH ajustado para 13 antes de realizar-se os ensaios.

TABELA 1 - COMPOSIÇÃO DA SALIVA ARTIFICIAL DE GAL E FOVET [65]

Composto	Concentração (mg L <sup>-1</sup> )	Composto	Concentração (mg L <sup>-1</sup> )
NaCl	125,6	NaHCO <sub>3</sub>	630,8
KCl	963,9	CaCl <sub>2</sub> ·6H <sub>2</sub> O	227,8
KSCN	189,2	NH <sub>4</sub> Cl	178
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	654,5	Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> ·10H <sub>2</sub> O	170
Ureia	200	-	-

FONTE: GAL; FOVET; ADIB-YADZI (2001) [65].

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Como já apresentado nos objetivos do presente trabalho, pretendeu-se desenvolver um nanocompósito entre nanopartículas de prata e polipirrol para a determinação eletroquímica de glicose. Comumente, a síntese química de nanopartículas metálicas envolve o uso de passivantes que, geralmente, são moléculas orgânicas de grandes cadeias saturadas. Esses passivantes, quando presentes na superfície de um eletrodo podem prejudicar o desempenho do sensor, dificultando a transferência eletrônica, recobrindo o material condutor, como também o transporte de massa das espécies devido ao seu elevado caráter hidrofóbico. Embora o desempenho analítico de sensores eletroquímicos construídos com nanopartículas metálicas passivadas por dodecanotiol [47,66] tenha sido avaliado pelo nosso grupo e alcançado relativo sucesso, percebeu-se que o uso destes nanomateriais poderia alcançar resultados ainda melhores utilizando para “proteção” das nanopartículas metálicas um material condutor – no caso, polipirrol.

A otimização dos parâmetros envolvidos na síntese do material foi realizada a partir de sua resposta eletroquímica frente a uma sonda. Neste caso, empregou-se como molécula modelo a glicose, uma molécula orgânica amplamente explorada no desenvolvimento de métodos eletroanalíticos [67,68]. A determinação de glicose utilizando eletrodos convencionais é bastante desejada, porém, difícil devido ao elevado sobrepotencial para sua complicada eletro-oxidação. Apesar dessa dificuldade são relatados na literatura alguns trabalhos sobre a determinação não-enzimática de glicose [68].

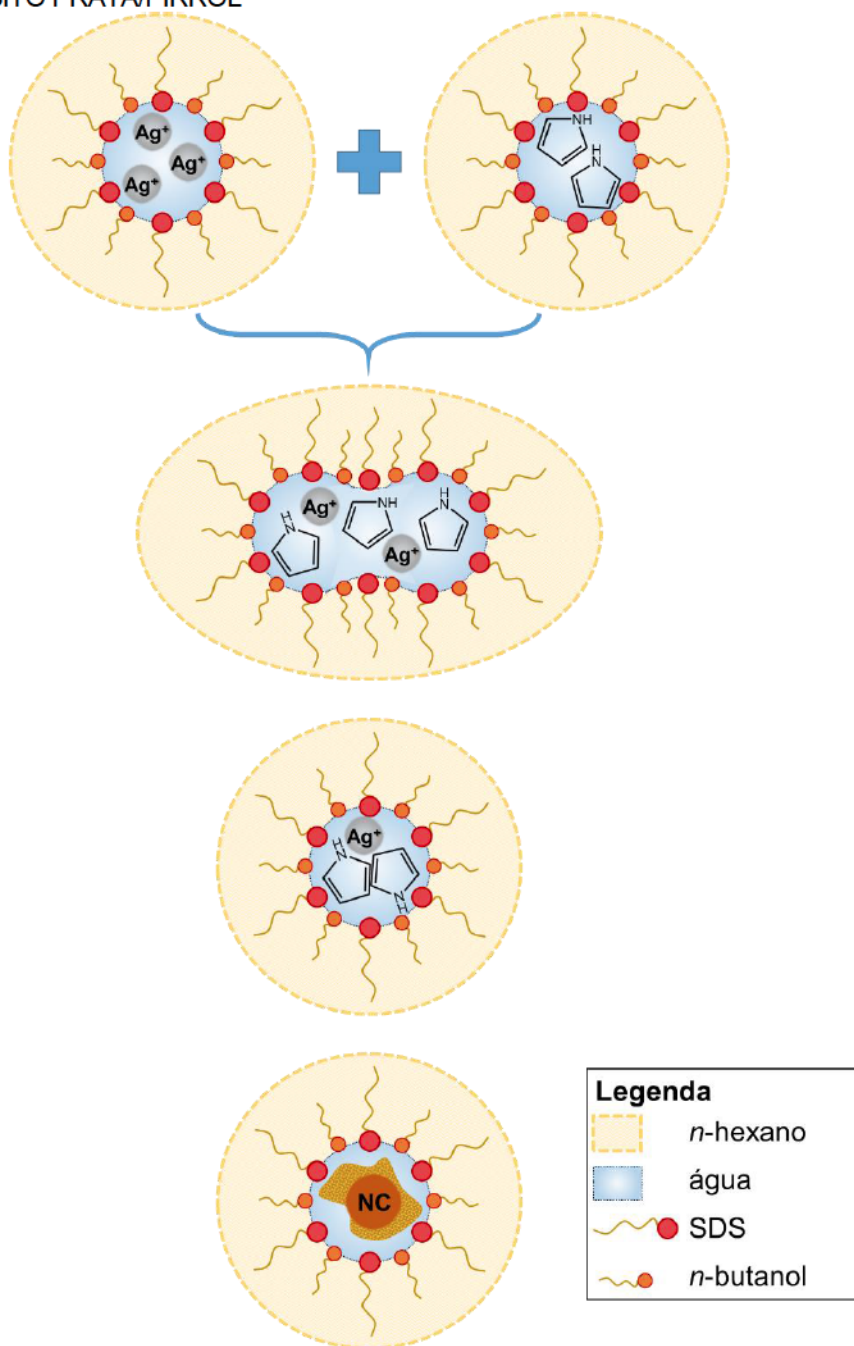
### 4.1. SÍNTESE DE NANOCOMPÓSITOS DE PRATA E POLIPIRROL

#### 4.1.1. Desenvolvimento do método de microemulsão

A síntese foi realizada em um sistema de microemulsão reversa, em que o sal precursor ( $\text{AgNO}_3$ ) e o monômero (pirrol – Py) estão “engaiolados” em micelas compostas por dodecilsulfato de sódio e butanol, dispersas na fase orgânica, o hexano. No decorrer da síntese, ocorre a colisão randômica de diferentes micelas, promovendo uma troca intermicelar dos reagentes, iniciando

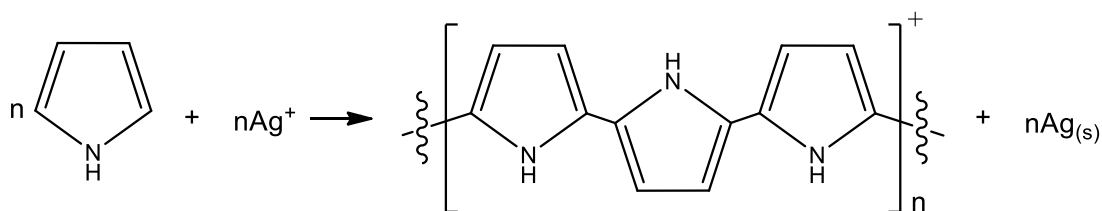
o processo de nucleação e crescimento das partículas, como representado na Figura 14.

FIGURA 14 - REPRESENTAÇÃO DAS ETAPAS NA SÍNTESE POR MICROEMULSÃO DE NANOCOMPÓSITO PRATA/PIRROL



A formação do nanocompósito foi conduzida por uma reação redox espontânea, com a redução dos íons  $\text{Ag}^+$  pelo pirrol e, conseqüentemente, a oxidação do monômero iniciando o processo de polimerização, conforme o esquema a seguir (Figura 15).

FIGURA 15 - REAÇÃO REDOX ENTRE A PRATA E O PIRROL, COM A FORMAÇÃO DO POLIPIRROL E NANOPARTÍCULAS DE PRATA



Através da equação proposta por Fang e Venable [58] (Equação 1), pode-se calcular o raio das gotículas esféricas de água acumulada ( $R_w$ ) em uma microemulsão reversa (água/óleo).

$$R_w = 3[M_s + rM_{cs} + \{(W_w + W_{cs})/W_s\}M_s/\{N\rho_d(A_s + rA_{cs})\}] \quad (1)$$

onde:

$M_s$ massa molar do surfactante ( $\text{g mol}^{-1}$ )	288,38	[45]
$M_{cs}$ massa molar do cossurfactante ( $\text{g mol}^{-1}$ )	74,12	[45]
$W_w$ fração mássica de água	0,300	
$W_s$ fração mássica de surfactante	0,110	
$W_{cs}$ fração mássica de cossurfactante	0,219975744	
$N$ número de Avogadro	$6,022 \times 10^{23}$	[45]
$\rho_d$ densidade da fase dispersante ( $\text{g/nm}^3$ )	$6,72 \times 10^{-22}$	[45]
$A_s$ área da seção transversal do surfactante ( $\text{nm}^2$ )	0,35	[60]
$A_{cs}$ área da seção transversal do cossurfactante ( $\text{nm}^2$ )	0,20	[60]
$r (= N_{cs}/N_s)$ razão estrutural	7,78	
$N_{cs}$ número de moléculas de cossurfactante	$3,25 \times 10^{22}$	
$N_s$ número de moléculas de surfactante	$4,18 \times 10^{21}$	

Para a síntese proposta, determinou-se o raio de água na micela em 8,67 nm, sendo este, assim, o raio do nanorreator, que será onde todas as etapas da reação irão ocorrer, encapsulando tanto os reagentes como os produtos em um volume único. O efeito gaiola gerado pelas micelas pode vir a controlar o tamanho do nanomaterial formado.

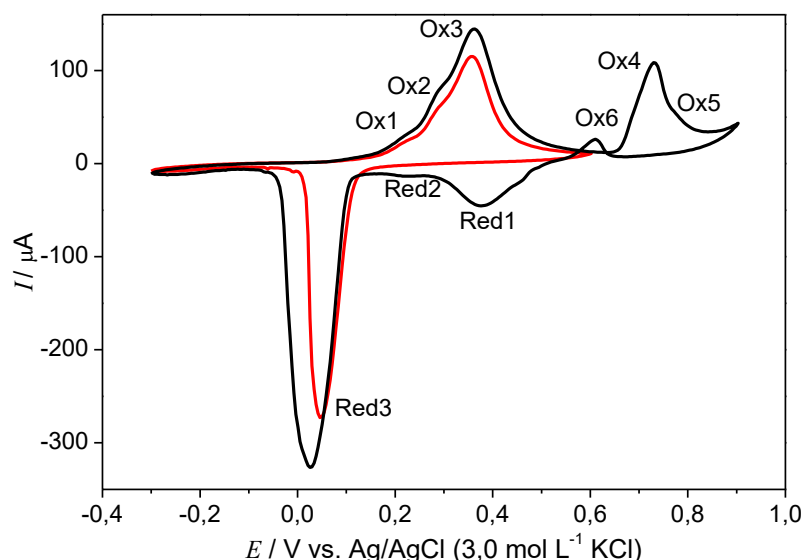
#### 4.1.2. Comportamento Eletroquímico do NCAgPPy

A fim de verificar os processos eletroquímicos envolvidos no nanocompósito sintetizado realizou-se a caracterização eletroquímica do nanocompósito utilizando-se a técnica de voltametria cíclica, tendo como

eletrólito suporte uma solução de NaOH 0,1 mol L<sup>-1</sup>, a uma velocidade de varredura de 50 mV s<sup>-1</sup>.

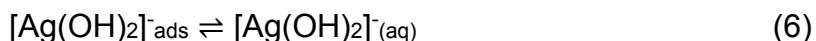
Os voltamogramas cíclicos obtidos para um eletrodo de carbono vítreo modificado com o NCAgPPy60-1:2 estão apresentados na Figura 16.

FIGURA 16 - VOLTAMOGRAMA CÍCLICO DO NCAGPPY1-1:2, NA FAIXA DE -0,3 A 0,9 V (PRETO) E NA FAIXA DE -0,3 A 0,6 V (VERMELHO),  $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$  EM NaOH 0,10 mol L<sup>-1</sup>



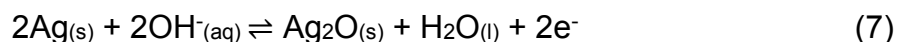
Com base nos resultados é possível verificar a presença de seis picos de oxidação, sendo Ox1 em 0,22 V, Ox2 em 0,27 V, Ox3 em 0,36 V, Ox4 em 0,70 V, Ox5 em 0,81 V e um pico de oxidação no sentido inverso da varredura em 0,57 V (Ox6), perfil semelhante ao observado para eletrodos de prata *bulk* em meio alcalino. Os processos eletroquímicos envolvidos com a prata foram descritos por Quan *et al.* [70] e Rehim *et al.* [71], transferindo estes mesmos conceitos para o material nanométrico.

O pico anódico Ox1, é atribuído à formação superficial de  $[\text{Ag}(\text{OH})_2]^-$  que é dissolvido e adsorvido no eletrodo, segundo as reações 5 e 6 [70,71]:

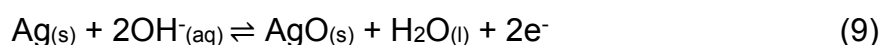
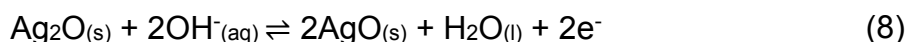


Os picos Ox2 e Ox3 devem-se à formação de  $\text{Ag}_2\text{O}$ , sendo que Ox2 é devido à eletroformação de uma monocamada superficial do óxido, enquanto o

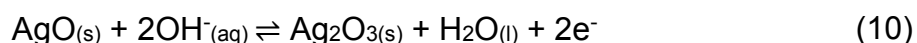
pico Ox3 é resultante da prata metálica que reagiu com a hidroxila do meio, com a formação de óxido mais interna do material (Reação 7) [70,71].



O pico Ox4 resulta da oxidação do óxido de prata (I) para a óxido de prata (II) (Reação 8), como também a oxidação direta da prata metálica (Reação 9) [70,71].



A Reação 10 correlaciona a formação do óxido de prata (III), em virtude da oxidação do óxido de prata (II), que é identificação como Ox5 [70,71].



O surgimento de um pico de oxidação é observado para a varredura no sentido reverso (Ox6) e pode ser atribuído a um processo autocatalítico, da formação de óxido de prata (II) a partir do óxido de prata (I). Uma vez que o  $\text{Ag}_2\text{O}$  já foi formado no sentido anódico, sua formação torna-se mais fácil [70,71].

O pico de redução Red1 está atribuído à redução do óxido de prata (II) e o pico Red3 a redução dos óxidos de prata (I) para prata 0 [70,71].

Quando os valores de potencial de inversão são alterados não ocorre a formação dos óxidos de prata (II) e (III) e assim, não há o aparecimento de seus processos de redução reversos. Apesar de não serem encontrados relatos sobre o processo de redução (Red2) acredita-se que ele pode estar relacionado a algum desdobramento devido a presença de diferentes fases de óxidos.

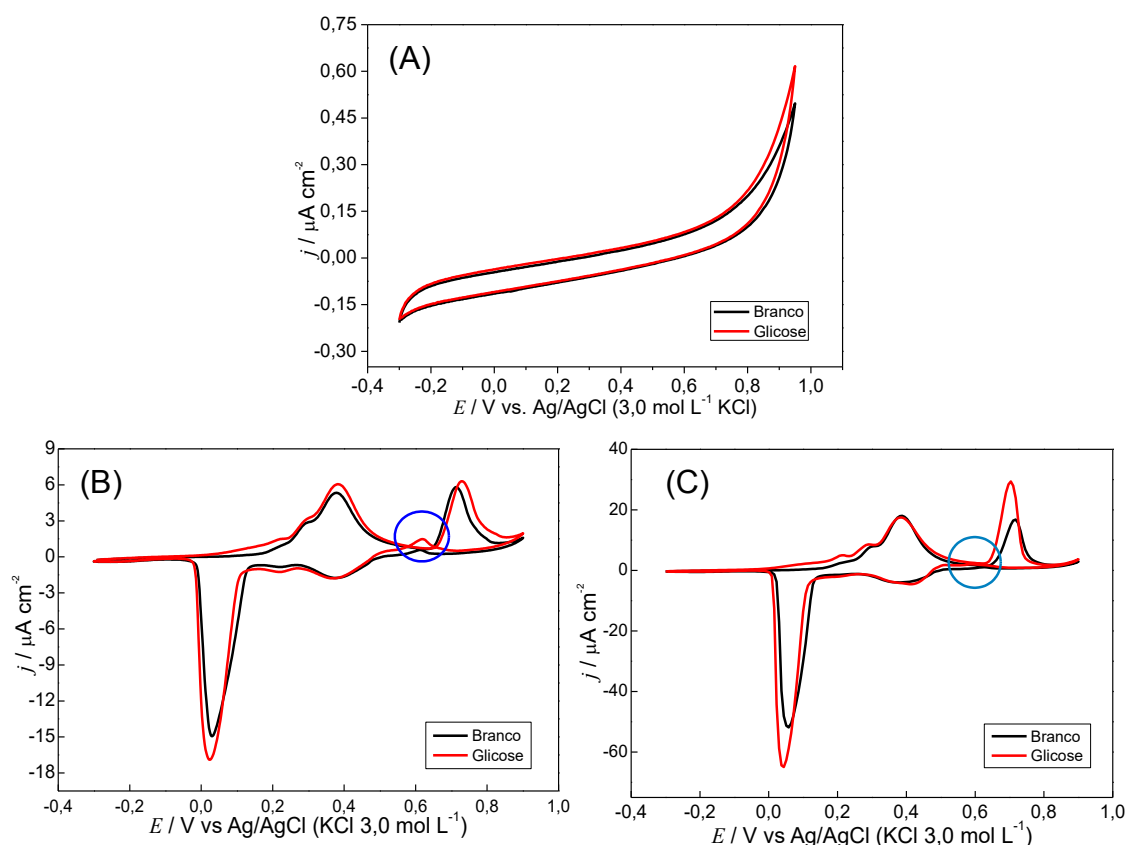
#### 4.1.3. Comportamento Eletroquímico do NCAgPPy na presença de glicose

Uma vez caracterizados os processos eletroquímicos para o EQM com NCAgPPy, realizou-se um teste na presença da glicose empregando os mesmos



parâmetros previamente estabelecidos. Para efeito comparativo foram realizadas medidas voltamétricas com carbono vítreo sem modificação e um eletrodo de prata (*bulk*), os resultados estão apresentados na Figura 17.

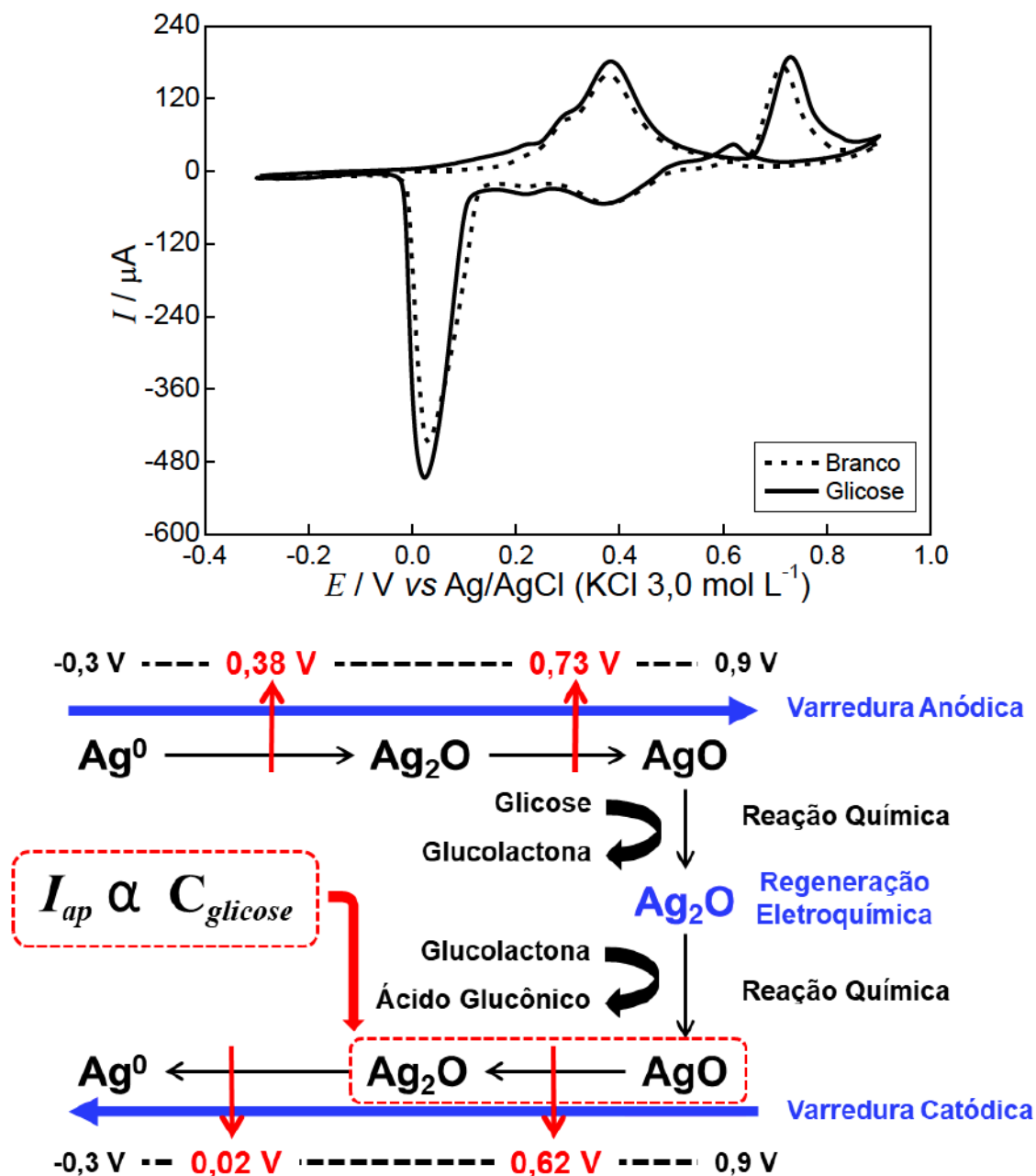
FIGURA 17 - VOLTAMOGRAMAS CÍCLICOS OBTIDOS PARA NA AUSÊNCIA E NA PRESENÇA DE  $1,0 \text{ mol L}^{-1}$  DE GLICOSE PARA (A) ELETRODO DE CARBONO VÍTREO, (B) ELETRODO DE CARBONO VÍTREO MODIFICADO COM  $3,0 \mu\text{L}$  DA DISPERSÃO  $1,0 \text{ mg E}$  (C) ELETRODO DE PRATA *bulk*.  $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$  EM  $\text{NaOH } 0,10 \text{ mol L}^{-1}$ . EM DESTAQUE O PROCESSO SECUNDÁRIO PARA DETERMINAÇÃO DE GLICOSE



Observa-se na Figura 17A que não há nenhum processo redox referente à oxidação da glicose utilizando um eletrodo de carbono vítreo. Comparando-se a Figura 17B com a 17C, nota-se que os dois eletrodos são capazes de oxidar a glicose a partir de um processo eletrocatalítico, gerando os sinais de densidade de corrente (descontados do branco) de  $920 \mu\text{A cm}^{-2}$  para o nanocompósito e  $720 \mu\text{A cm}^{-2}$  para o eletrodo *bulk*, porém o efeito eletrocatalítico é mais pronunciado no nanocompósito, visto que o sinal em relação ao eletrodo *bulk* é maior.

O mecanismo eletrocatalítico observado pode ser elucidado de acordo com as seguintes reações, apresentadas no voltamograma a seguir (Figura 18), como também no esquema proposto para um mecanismo.

FIGURA 18 - COMPORTAMENTO DE 0,001 MOL L<sup>-1</sup> DE GLICOSE PARA ELETRODO DE CARBONO VÍTREO MODIFICADO COM 3,0 µL DA DISPERSÃO 1,0 mg.  $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$  EM NaOH 0,10 mol L<sup>-1</sup>. ESQUEMA DO MECÂNISMO DA PRATA COM A GLICOSE



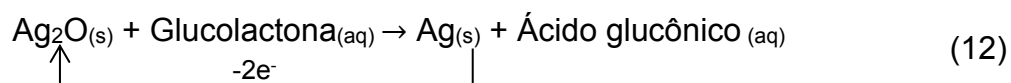
O processo de oxidação envolve a reação da glicose com AgO formado na superfície do eletrodo, o qual é consumido, voltando a Ag<sub>2</sub>O, conforme Reação 11.



O aumento do pico destacado em vermelho (Figura 18), refere-se a reoxidação do Ag<sub>2</sub>O a AgO (Reação 11) gerado a partir da reação da glicose.

O aumento do pico destacado em azul (Figura 18) se deve a oxidação do ácido glucônico pelo Ag<sub>2</sub>O, e não pelo AgO. Isso se deve ao fato do potencial de oxidação do Intermediário2 (~0,6 V) não ser alto o suficiente para a re-oxidação do Ag<sub>2</sub>O a AgO.

Assim, logo após a oxidação do ácido glucônico, há potencial suficiente para prata metálica gerada ser oxidada novamente ao Ag<sub>2</sub>O (Reação 12) o que gera um sinal de oxidação.



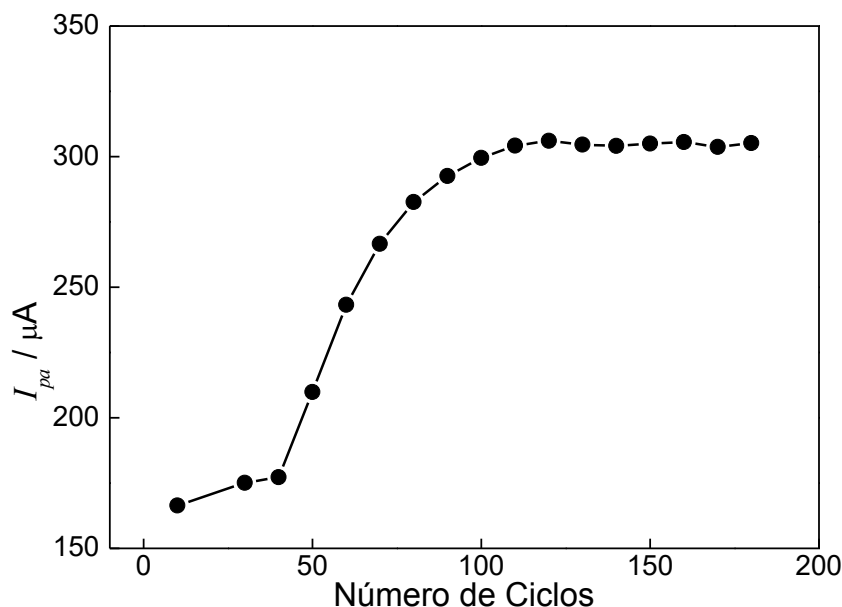
#### 4.1.4. Efeito do pré-tratamento do eletrodo

A formação de óxidos de prata na superfície de eletrodos é algo que requer bastante atenção, principalmente quando se pensa em aplicações analíticas utilizando estes óxidos como catalisadores na reação de oxidação de compostos de interesse. Para a formação e estabilização dos óxidos superficiais foi avaliada a estabilidade do eletrodo fixando um número de ciclos necessários para que não ocorram flutuações significativas na corrente de pico referente à formação do óxido de prata (II). Sendo assim, o sistema foi submetido a sucessivas varreduras cíclicas de potencial no intervalo de -0,3 a 0,9 V vs. Ag/AgCl (KCl 3,0 mol L<sup>-1</sup>) com velocidade de varredura de 100 mV s<sup>-1</sup>. A Figura 19 mostra a variação da corrente de pico para a formação de óxido de prata (II) (+ 0,75 V) em função do número de ciclos.

Observa-se claramente um aumento acentuado na corrente de pico para os primeiros ciclos, provavelmente em função da formação das primeiras camadas de AgO na superfície do eletrodo, mas ainda de forma desorganizada.

A partir do ciclo de varredura 50, inicia-se um acréscimo significativo na corrente de pico. As camadas mais internas do metal já atingiram uma organização, com a entrada do óxido no interior metálico. Após 120 ciclos, com o óxido de prata já interditamente organizado no nanocompósito, observou-se que já não há uma variação significativa de corrente. Dessa forma, um número mínimo de 130 ciclos foi adotado para a etapa de pré-tratamento do eletrodo antes de cada teste.

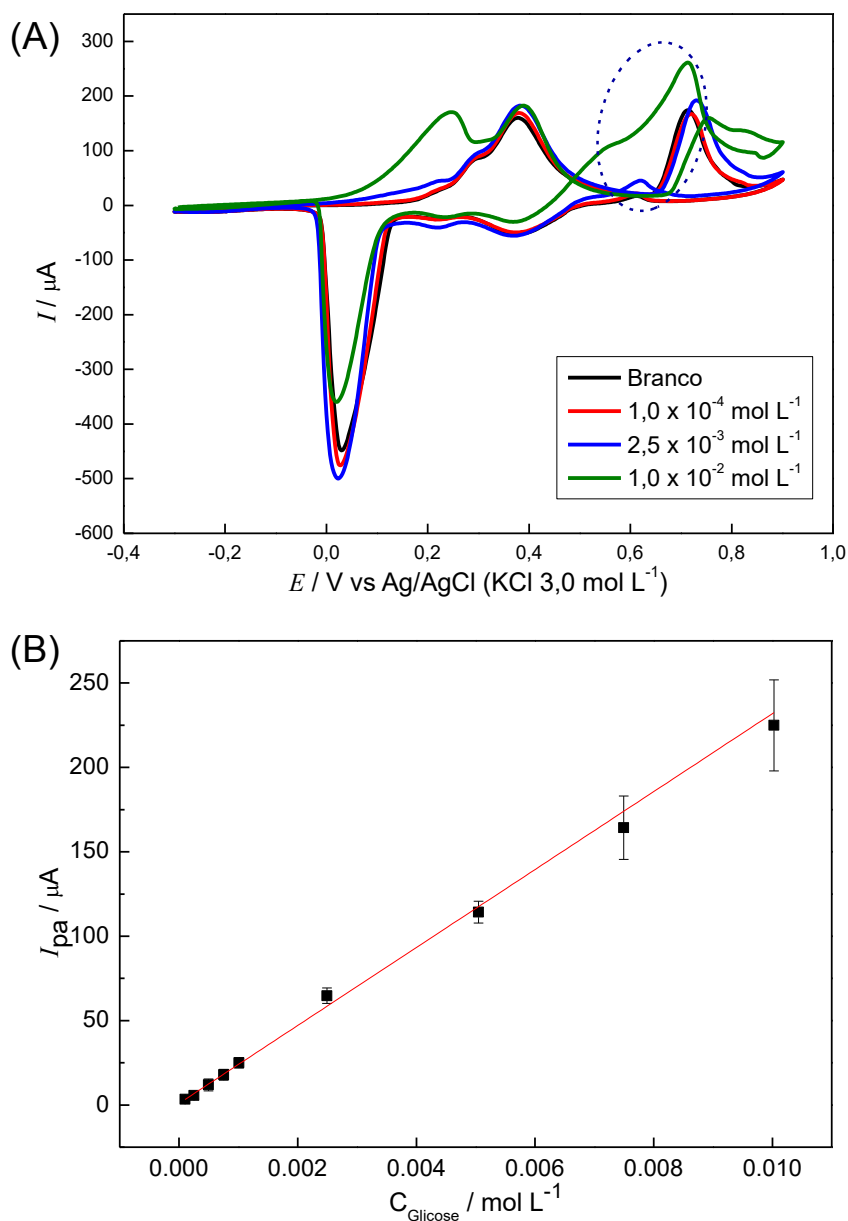
FIGURA 19 - VARIAÇÃO DA CORRENTE DE PICO ANÓDICA DO ÓXIDO DE PRATA (II) COM SUCESSIVOS CICLOS.  $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$  EM NaOH  $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ .



#### 4.2. OTIMIZAÇÃO DOS PARÂMETROS REFERENTES À SÍNTESE DO NANOCOMPÓSITO

A fim de desenvolver um nanocompósito que apresente a melhor resposta eletroanalítica para aplicação no desenvolvimento de sensores, a otimização dos parâmetros de síntese foi realizada com base nos resultados obtidos para a determinação de glicose, através de diferentes curvas analíticas empregando-se a técnica de voltametria cíclica, conforme exemplificado na Figura 20.

FIGURA 20 - (A) VOLTAMOGRAMAS CÍCLICOS OBTIDOS COM O NCAgPPy60-1:2 EM SOLUÇÃO DE NaOH  $0,10 \text{ mol L}^{-1}$  NA AUSÊNCIA E NA PRESENÇA DE DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE GLICOSE (DESTAQUE PARA OS PICOS MONITORADOS) E (B) CURVA ANALÍTICA OBTIDA PARA DETERMINAÇÃO DE GLICOSE.  $\nu = 50 \text{ mV s}^{-1}$

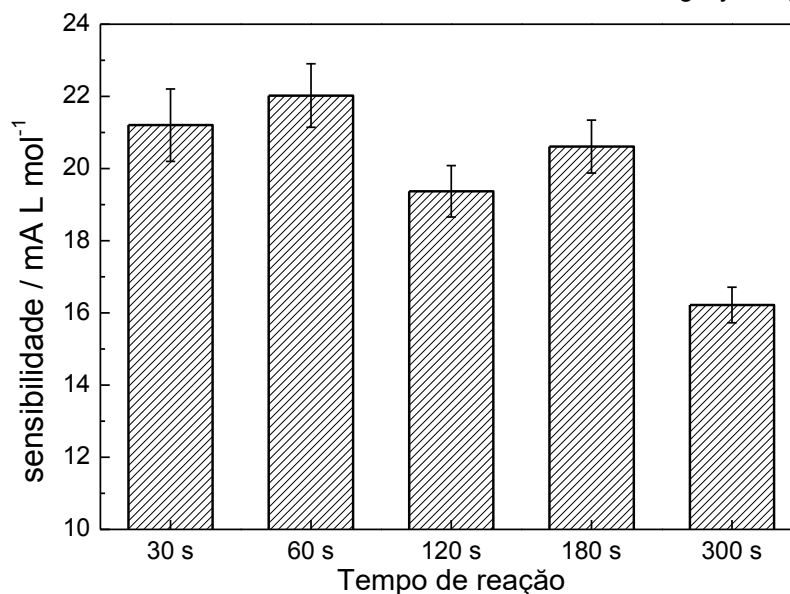


As curvas foram realizadas utilizando a técnica de voltametria cíclica, no intervalo de concentração de  $1,0 \times 10^{-4}$  a  $1,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ . Os valores de corrente de pico anódico foram monitorados em um potencial entre 0,60 e 0,70 V vs. Ag/AgCl e considerou-se a sensibilidade obtida para a escolha do melhor nanocompósito. Para verificar-se a influência dos parâmetros avaliados foram realizadas sínteses em triplicata para cada nanocompósito e foram construídas três curvas analíticas.

#### 4.2.1. Efeito do tempo de reação

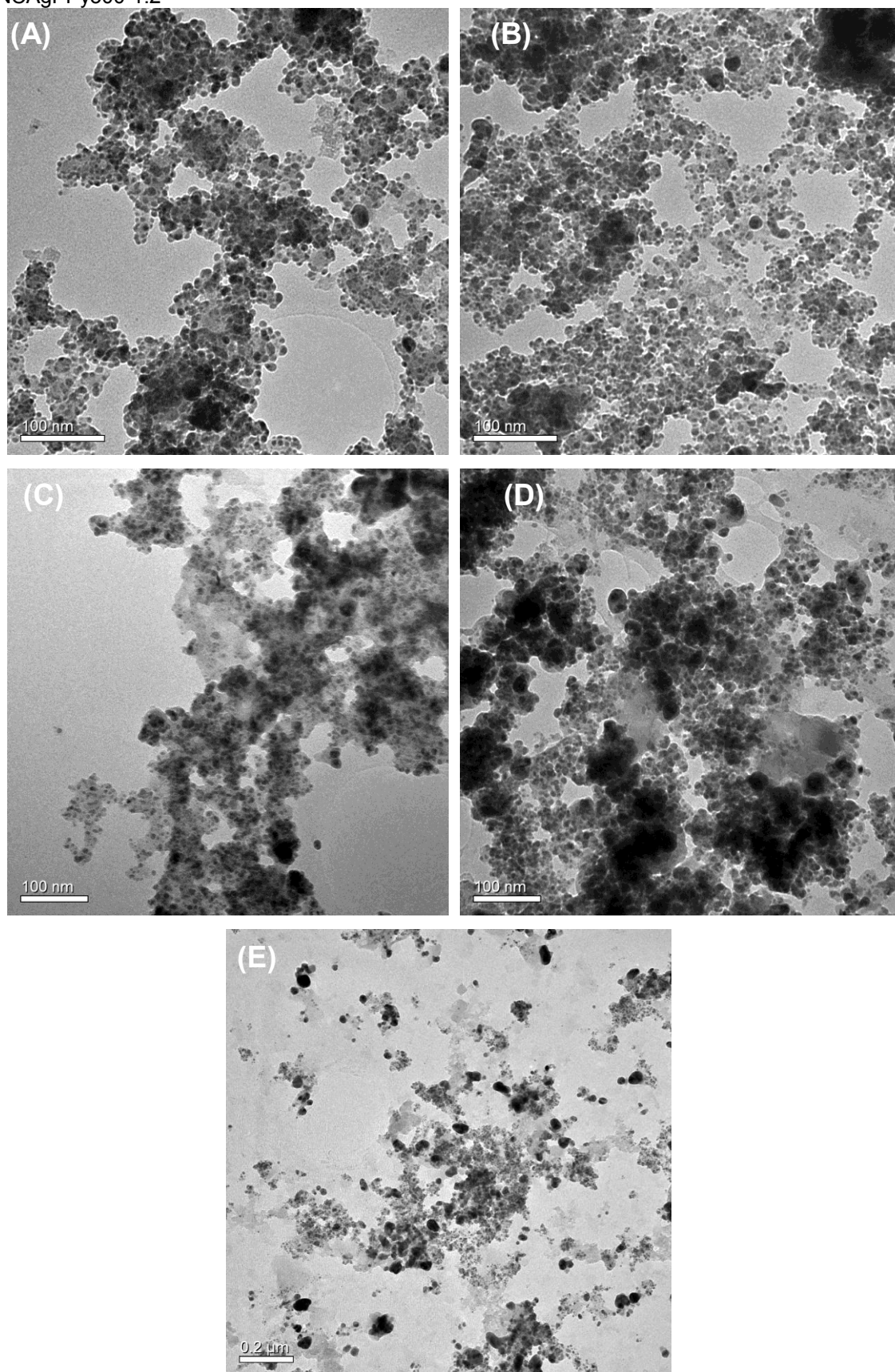
O primeiro parâmetro otimizado foi o tempo de reação. Esse parâmetro é importante, pois o tamanho das partículas é significativamente afetado em função do tempo de reação, pois partículas maiores são formadas com o aumento do tempo e isso pode afetar o desempenho eletroquímico do material. Nesse estudo variou-se o tempo de reação no intervalo de 30 a 300 segundos fixando-se a razão molar Ag:Py em 1:2. A Figura 21 apresenta os resultados obtidos nesse estudo em termos de sensibilidade da curva analítica ( $\text{mA L mol}^{-1}$ ) para cada tempo estudado.

FIGURA 21 - VARIAÇÃO DA SENSIBILIDADE (INCLINAÇÃO DA CURVA ANALÍTICA) PARA DETERMINAÇÃO DE GLICOSE DE  $1,0 \times 10^{-4}$  A  $1,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ , COM DIFERENTES TEMPOS DE REAÇÃO: 30, 60, 120, 180 E 300 s. FIXADA A RAZÃO MOLAR Ag:Py 1:2 (N=9)



Os maiores valores de sensibilidade foram obtidos para tempos de reação entre 30 e 60 s, seguidos de uma ligeira queda para tempos maiores, devido ao aumento do tamanho das nanopartículas e da matriz polimérica. Na Figura 22 são apresentadas imagens de MET para as diversas sínteses realizadas que confirmam as variações citadas anteriormente. O aumento do tamanho das nanopartículas e da matriz polimérica impede a chegada do analito aos sítios ativos do eletrodo dificultando a transferência eletrônica e, conseqüentemente, diminui a sensibilidade.

FIGURA 22 - IMAGENS DE MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE TRANSMISSÃO OBTIDAS PARA (A) NCAgPPy30-1:2; (B) NCAgPPy60-1:2; (C) NCAgPPy120-1:2; (D) NCAgPPy180-1:2; e (E) NCAgPPy300-1:2



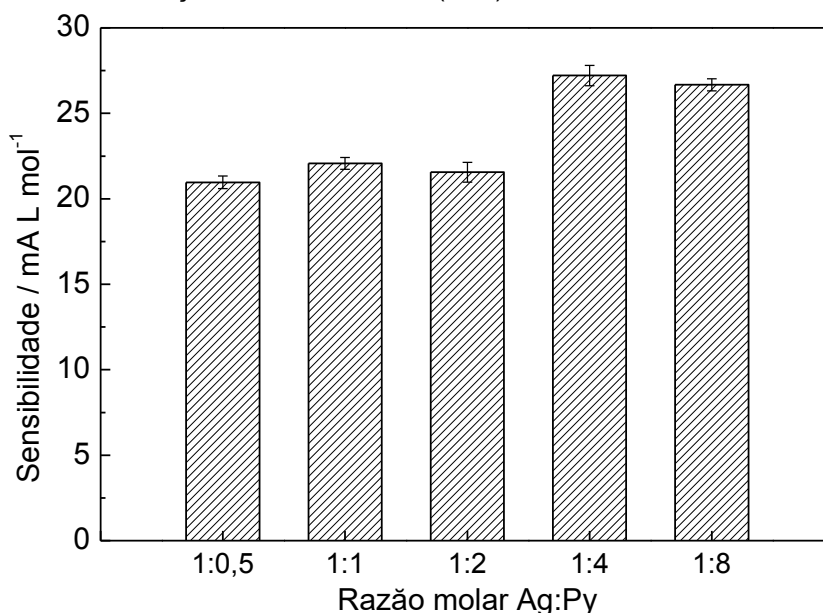
Não há diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre os tempos de 30 s e 60s, porém optou-se por escolher o tempo de reação de 60s para estudos posteriores, uma vez que com este tempo é mais fácil o controle sobre a síntese, além de apresentar uma resposta melhor para a oxidação de glicose.

#### 4.2.2. Efeito da razão molar Ag:Py

A definição deste parâmetro é importante, pois a quantidade de redutor interfere na etapa de nucleação, onde se busca uma monodispersão de tamanho, com a formação rápida e de muitos núcleos. Por outro lado, o redutor pirrol também realiza a estabilização das nanopartículas com a formação da matriz polimérica. Assim procura-se um equilíbrio entre a formação de nanopartículas, com um encapsulamento destas pelo polipirrol.

Para esse estudo, para uma concentração fixa do sal precursor de prata igual a  $0,02 \text{ mol L}^{-1}$  variou-se a concentração de pirrol, estabelecendo razões molares Ag:Py que variaram de 1:0,5 até 1:8. A Figura 23 apresenta os resultados obtidos nesse estudo.

FIGURA 23 - VARIAÇÃO DA SENSIBILIDADE PARA DETERMINAÇÃO DE GLICOSE DE  $1,0 \times 10^{-4}$  A  $1,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ , COM DIFERENTES RAZÃO MOLAR Ag:Py: 1:0,5, 1:1, 1:2, 1:4 E 1:8. FIXADO TEMPO DE REAÇÃO 60 SEGUNDOS (N=9).

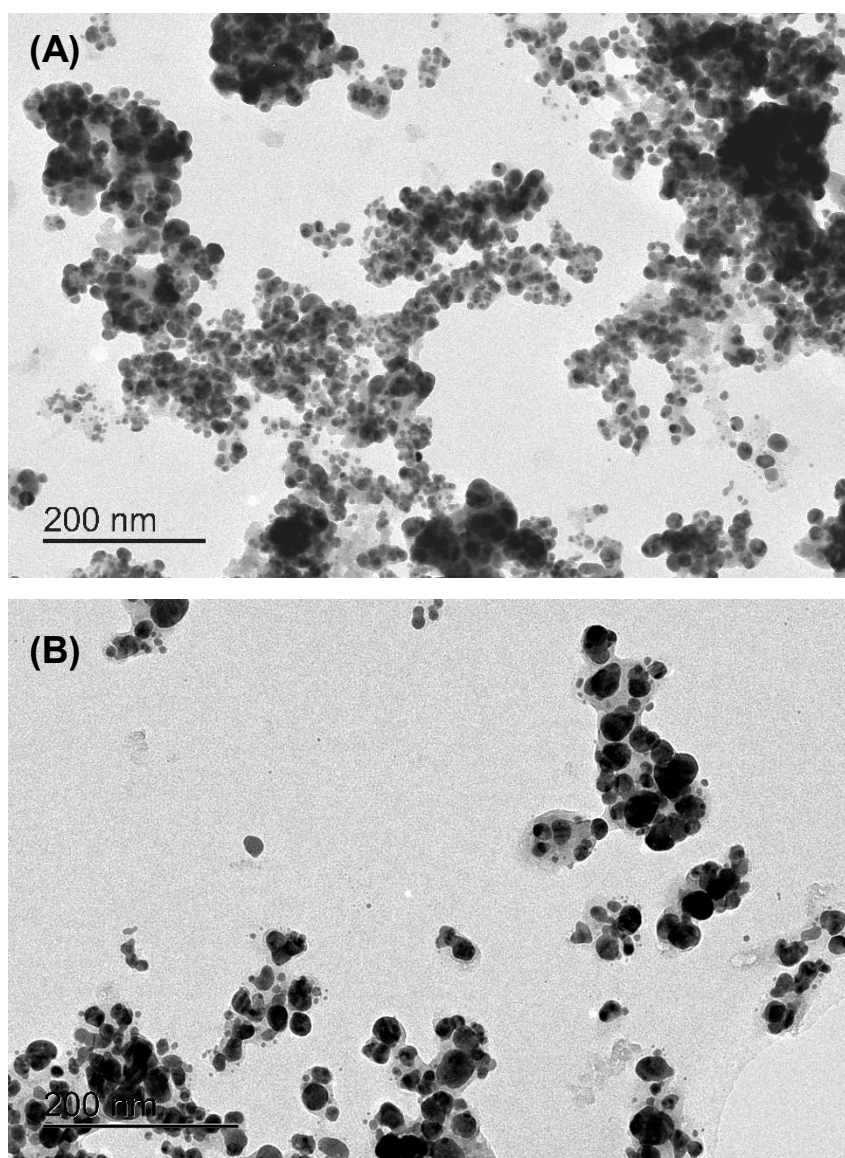


Podemos observar uma sensibilidade menor quando utilizamos concentrações menores de pirrol, com um aumento significativo é observado



quando a razão molar é maior que 1:2. Esse comportamento pode ser explicado se levarmos em consideração que o pirrol, além de formar a matriz polimérica que envolve as nanopartículas de prata, também é o agente redutor da síntese e, portanto, responsável pela formação de prata metálica. Uma menor concentração de agente redutor no meio reacional acarreta na formação de um número menor de núcleos e com tempos diferentes, ocorrendo a formação de partículas maiores com área superficial menor. A diminuição da quantidade de átomos expostos e a menor tensão superficial geram materiais menos catalíticos, do ponto de vista nanométrico.

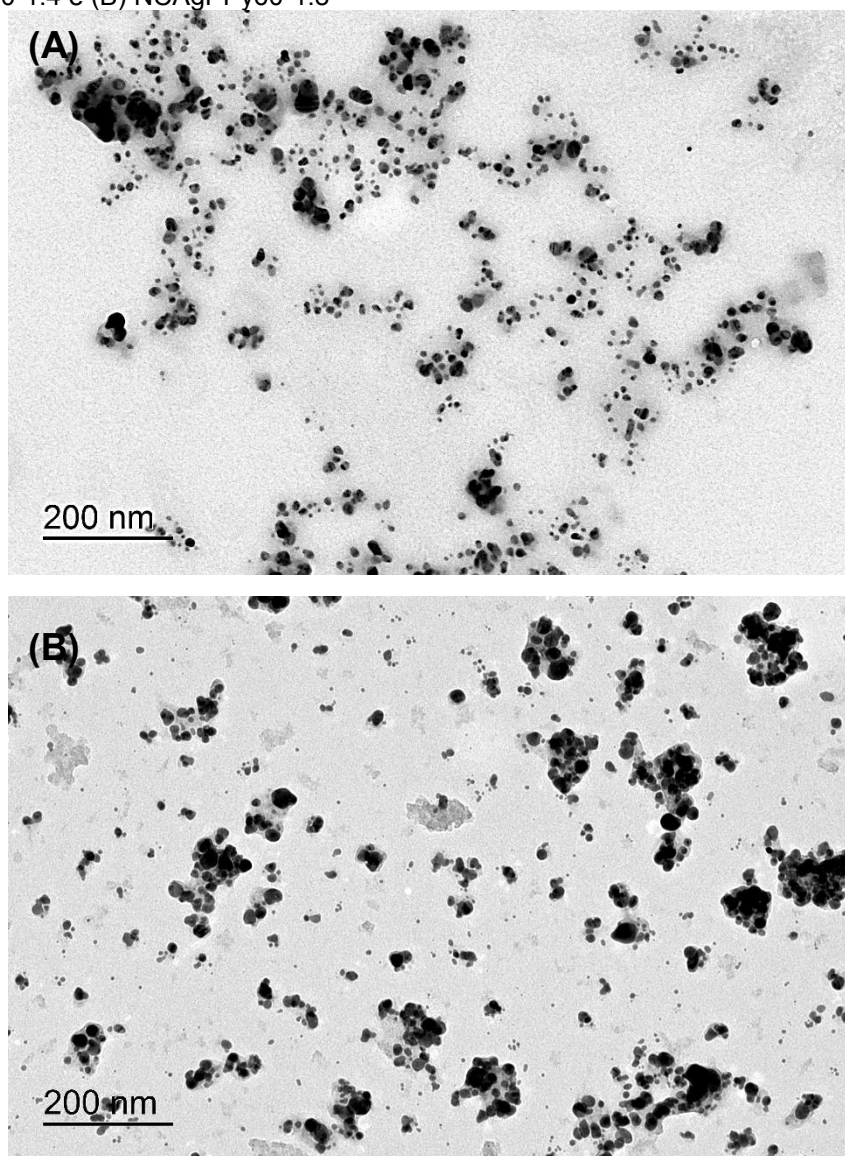
FIGURA 24 - IMAGENS DE MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE TRANSMISSÃO OBTIDAS PARA (A) NCAgPPy60-1:0,5 E (B) NCAgPPy60-1:2



Pode-se observar na Figura 24 que estes nanocompósitos apresentam-se com partículas mais irregulares, além de estarem ligadas pelo polipirrol, formando aglomerados.

Quando a razão é de 1:4, o material apresenta-se mais desagregado, com partículas de prata envoltas por polipirrol mais separadas (Figura 25A). Porém para razões maiores de 1:8 (Figura 25B), as nanopartículas continuam separadas, mas envoltas em uma quantidade maior da matriz polimérica, uma vez que duplica a quantidade molar de monômero, podendo acarretar em um impedimento estérico para a chegada do analito à superfície reativa.

FIGURA 25 - IMAGENS DE MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE TRANSMISSÃO PARA (A) NCAgPPy60-1:4 e (B) NCAgPPy60-1:8



Apesar de não apresentar diferença significativa entre a sensibilidade obtida para os nanocompósitos com razão molar de 1:4 e 1:8 ( $p < 0,05$ ), o NCAgPPy60-1:4, por apresentar uma sensibilidade um pouco superior, porém com uma aglomeração menor das nanopartículas. Com base nestes resultados, podemos concluir que a razão molar 1:4 foi a que apresentou melhor sensibilidade para determinação da glicose. Sendo assim o nanocompósito NCAgPPy60-1:4 foi escolhido como melhor agente para oxidação da glicose.

#### 4.3. CARACTERIZAÇÃO ELETROQUÍMICA, MORFOLÓGICA E ESTRUTURAL DO NCAgPPy

##### 4.3.1. Estimativa da quantidade de prata eletroativa

A área eletroquimicamente ativa do eletrodo de carbono vítreo modificado com 3,0  $\mu\text{L}$  de uma dispersão 1,0  $\text{mg mL}^{-1}$  do NCAgPPy60-1:4 foi determinada pela integração da carga envolvida no processo de redução do  $\text{Ag}_2\text{O}$  para  $\text{Ag}^0$  (pico Red3 – Figura 16) com a reação envolvendo 2 elétrons para cada dois  $\text{Ag}^0$  formados, ocasionando um saldo de 1 elétron.

Assim, a partir da carga gerada nesse processo e com base na relação de Faraday (em que 1 mol de elétrons tem aproximadamente 96480 C) aplicada ao número de elétrons transferidos na reação, é possível inferir sobre a quantidade de mols ativos de prata expostos que o nanomaterial apresenta. Observando-se a Tabela 2 é possível notar que o número de mols de prata ativos é 55 vezes maior se comparado com um eletrodo de prata *bulk*.

TABELA 2 - COMPARAÇÃO ENTRE O NÚMERO DE MOLS DE PRATA ATIVOS PARA O NANOCOMPÓSITO NCAgPPy60-1:4 E ELETRODO DE PRATA *bulk*

Material	Área geométrica ( $\text{cm}^2$ )	Fração de recobrimento ( $\text{nmol cm}^{-2}$ )
Nanocompósito	0,03	449
<i>Bulk</i>	0,002	8,16

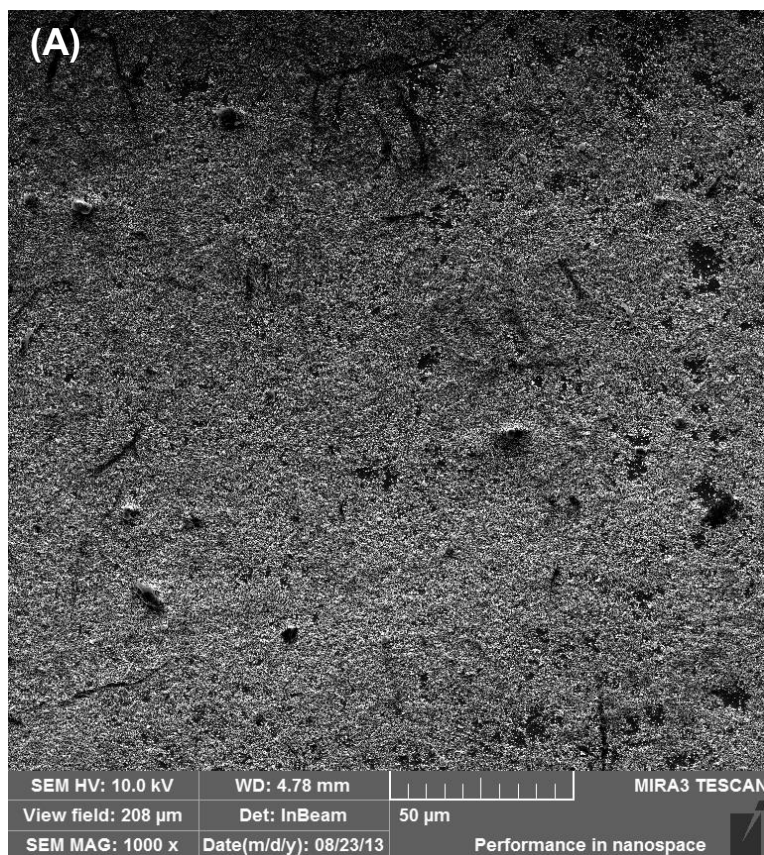
Caetano e colaboradores [66] realizaram a síntese de nanopartículas de platina passivadas com dodecanotiol para o desenvolvimento de um EQM para determinação de dapsona, e, apesar de tratar-se de um metal diferente, com essa nanopartícula estimou uma área ativa 6 vezes maior que para o sólido estendido. O número significativamente maior encontrado no presente trabalho

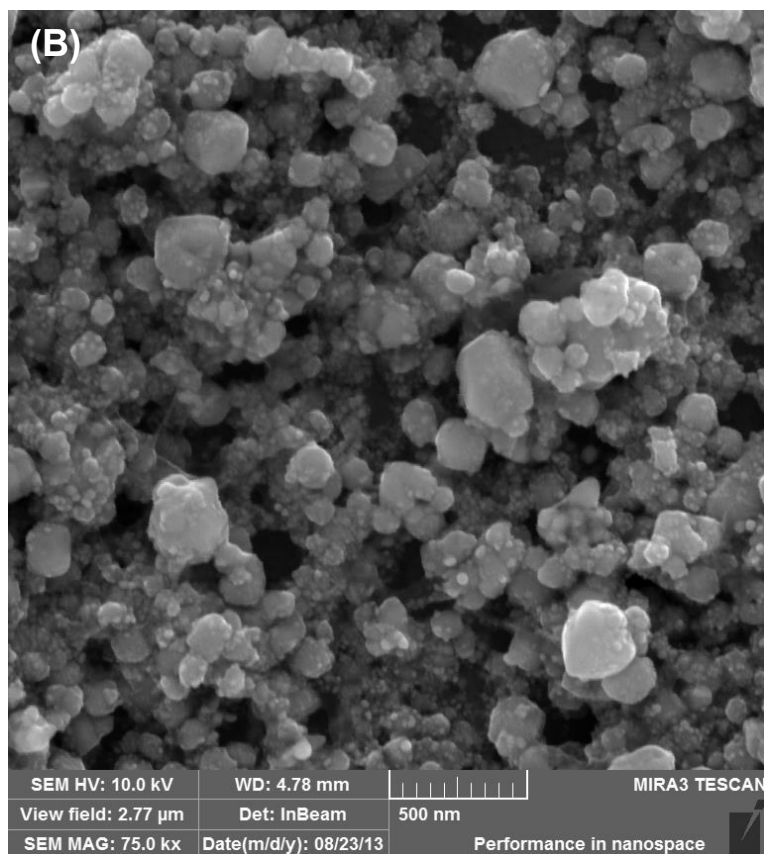
pode estar relacionado com a passivação empregada, uma vez que se empregou um material condutor para a estabilização do nanomaterial, diferentemente do autor supracitado, que o passiva com um alcanotiol, não condutor, que justificado pelo mesmo, inibe os sítios ativos para a atividade eletroquímica.

#### 4.3.2. Caracterização por Microscopia Eletrônica de Varredura

A morfologia e dispersão do nanocompósito sobre a superfície do eletrodo foram averiguadas através de imagens de microscopia eletrônica de varredura (MEV) da amostra NCAgPPy60-1:4. Para mimetizar o processo de modificação do eletrodo de carbono vítreo, realizou-se o mesmo procedimento sobre uma superfície de vidro.

FIGURA 26 - IMAGENS DE MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA PARA UMA SUPERFÍCIE DE VIDRO MODIFICADA COM NCAgPPy60-1:4 (A) COM UM AUMENTO DE 100 VEZES E (B) COM UM AUMENTO DE 75 MIL VEZES



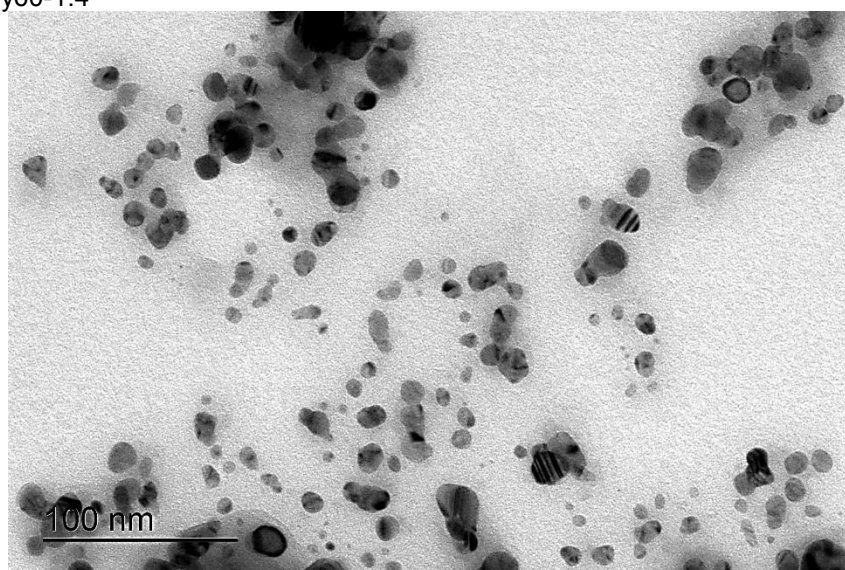


Através das imagens de MEV (Figura 26A), é possível notar que toda a superfície do eletrodo é recoberta pelo nanomaterial, e, também (Figura 26B) a modificação apresenta-se bastante porosa, atribuindo uma elevada área superficial para o EQM, o que pode justificar sua alta fração de recobrimento, como também o elevado número de ciclos para a estabilização do sistema para seu pré-tratamento, sendo necessário um grande tempo para permeação dos grupos hidroxilas do meio eletrolítico.

#### 4.3.3. Caracterização por Microscopia Eletrônica de Transmissão

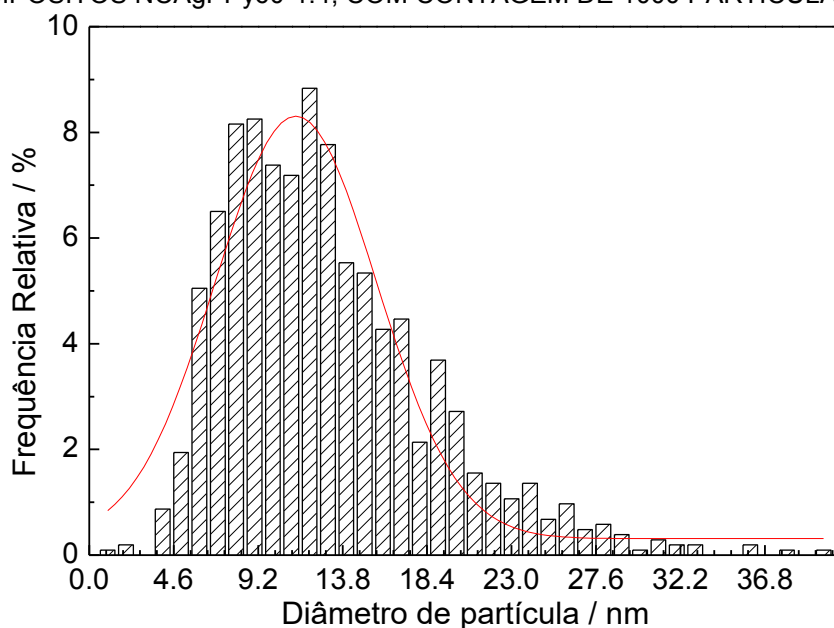
Para se verificar a estrutura morfológica dos nanocompósitos, realizou-se imagens de microscopia eletrônica de transmissão (MET) da amostra NCAgPPy60-1:4 recém preparadas (Figura 27). As imagens mostram partículas semiesféricas, em que a prata está ligada e distribuída na matriz polimérica e não em partículas tipo *core-shell*, como foi idealizado. Essa conformação se deve provavelmente a uma distribuição homogênea dos precursores do nanocompósito, prata (I) e pirrol, dentro da micela.

FIGURA 27 - IMAGEM DE MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE TRANSMISSÃO OBTIDA PARA O NCAgPPy60-1:4



A estimativa do tamanho das nanopartículas foi realizada pela contagem manual de 1000 objetos de diferentes imagens, que através do *software* DigitalMicrograph 3.6.5 obteve-se o diâmetro de cada partícula. A Figura 28 mostra o histograma da distribuição do tamanho das nanopartículas de prata contidas no nanocompósito NCAgPPy60-1:4, podendo-se estimar o tamanho médio de  $12 \pm 5$  nm.

FIGURA 28 - HISTOGRAMA DE FREQUÊNCIA RELATIVA DO TAMANHO DOS NANOCOMPÓSITOS NCAgPPy60-1:4, COM CONTAGEM DE 1000 PARTÍCULAS





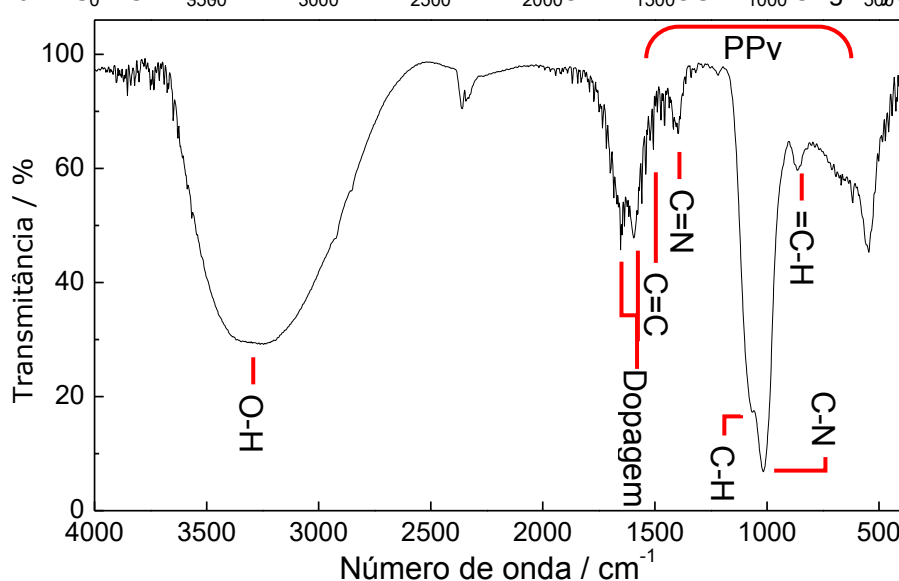
É possível inferir que as nanopartículas realmente ficaram “engaioladas” dentro das micelas, com estas as protegendo, uma vez que o diâmetro das micelas foi calculado em 17,34 nm (raio de 8,67 nm) e, aproximadamente, 84% das nanopartículas estão com tamanho menor que 18 nm.

#### 4.3.4. Caracterização por Espectroscopia na Região do Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR)

A espectroscopia no infravermelho fornece evidências da presença de vários grupos funcionais na estrutura orgânica devido à interação das moléculas ou átomos com a radiação eletromagnética em um processo de vibração molecular, associados com o estado eletrônico fundamental da molécula. As ligações covalentes que constituem as moléculas orgânicas estão em constantes movimentos axiais e angulares. A radiação no infravermelho faz com que átomos e grupos de átomos de compostos orgânicos vibrem com amplitude aumentada ao redor das ligações covalentes que os ligam.

A técnica de Espectroscopia na Região do Infravermelho por Transformada de Fourier foi utilizada para se confirmar a presença e determinar as características do polipirrol presente no nanocompósito. A Figura 29 a seguir, apresenta o espectrograma obtido para a amostra NCAqPPy60-1:4.

FIGURA 29 - ESPECTROGRAMA DE INFRAVERMELHO DA AMOSTRA NCAgPPy60-1:4



Nota-se uma banda larga entre  $3000\text{ cm}^{-1}$  e  $4000\text{ cm}^{-1}$  referente ao O-H da água, que se deve ao fato do material ter sido seco apenas a temperatura ambiente e o polipirrol é um polímero higroscópico. As bandas características do polipirrol são predominantes na região de  $1600\text{--}600\text{ cm}^{-1}$ . As bandas em  $1558\text{ cm}^{-1}$  e  $1457\text{ cm}^{-1}$  podem ser atribuídas às vibrações do anel pirrolidínico, correspondentes aos estiramentos assimétricos (C=C) e simétricos (C=N), já os sinais em dubleto em  $1654$  e  $1594\text{ cm}^{-1}$ , são relatados como dopagem da matriz polimérica. A banda localizada em  $1015\text{ cm}^{-1}$  com um ombro em  $1074\text{ cm}^{-1}$ , são estiramento C-N e deformação C-H. A banda observada em  $867\text{ cm}^{-1}$  pode ser atribuída à vibração =C-H para fora do plano, referente à polimerização do pirrol [72].

#### 4.3.5. Caracterização estrutural Difração de Raio-X

A técnica de difração de raio-X foi aplicada para determinar-se as características cristalográficas no material, como também determinar se a prata do nanocompósito está na forma metálica ou de algum de seus óxidos.

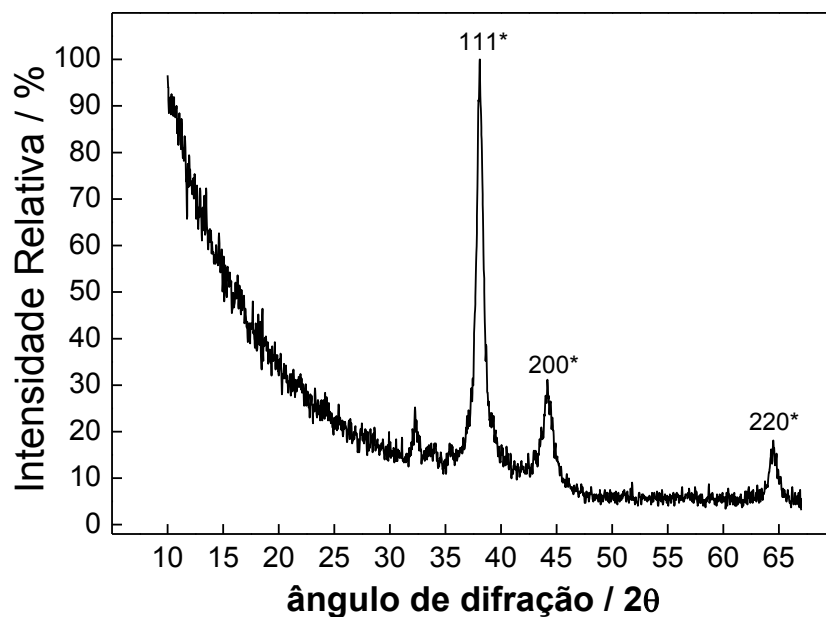
As amplitudes dos picos de um difratograma de raios-X são dependentes dos planos cristalográficos, que por sua vez dependem dos índices  $hkl$ . As posições dos picos estão ligadas ao ângulo de difração do raio-x sobre o átomo, que é característico de cada um dos elementos [73].

Para obter uma estrutura cristalina completa, um difratograma de raios-X registra rotações em torno de três planos perpendiculares entre si do cristal. Isso fornece informações abrangentes sobre os vários planos cristalográficos da estrutura, e podendo-se determinar a composição química de cada sólido [73].

A Figura 30, a seguir, apresenta o difratograma da amostra NCAgPPy60-1:4, em que é possível estipular os planos cristalográficos do nanocompósito.



FIGURA 30 - DIFRATOGRAMA DE RAIOS-X OBTIDO DA AMOSTRA NCAgPPy60-1:4.

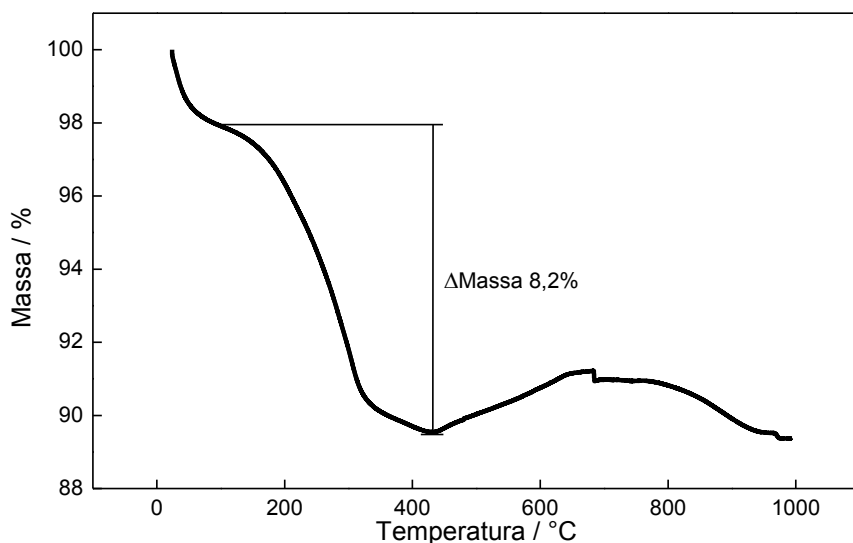


Analisando o difratograma de raios-x da amostra e comparando-se com os padrões do Joint Committee on Powder Diffraction Standards, International Center for Diffraction Data (1995) [74], é possível atribuir-se os picos em 38,2° e 44,1°, 64,4° com intensidades relativas de 100%, 44% e 18% respectivamente, à prata metálica com estrutura cúbica de face centrada, pois segundo a literatura este sólido apresenta picos de difração, 38,2° (1 1 1), 44,4° (2 0 0), e 64,6° (2 2 0) com intensidades semelhantes.

#### 4.3.6. Caracterização por Análise Termogravimétrica

A análise termogravimétrica (ATG) consiste na medida da mudança da massa de uma amostra em função da variação da temperatura a uma programação controlada. A curva registrada da variação massa/temperatura pode fornecer diversas informações como estabilidade térmica, oxidativa e composição de diferentes sistemas, como plásticos, blendas poliméricas e compósitos com matriz polimérica. ATG permite quantificar perda ou ganho de água, perda de solvente, descarboxilação, pirólise, entre outros e é um método conveniente para checar/verificar alguma modificação na formulação de um material, sendo frequentemente usada como uma ferramenta de controle de qualidade [75]. A curva termogravimétrica obtida para o nanocompósito otimizado pode ser observada na Figura 31.

FIGURA 31 - CURVA TERMOGRAVIMÉTRICA OBTIDA PARA O COMPÓSITO NCAgPy60-1:4. ATMOSFERA DE AR SINTÉTICO, 5° C min<sup>-1</sup>



Em um primeiro momento, no processo de aquecimento da amostra a aproximadamente 60° C, ocorre uma perda significativa de massa, decorrente da perda de água residual da amostra. A partir de 120° C começa o processo de decomposição do polipirrol, se estende até, aproximadamente, 420° C, onde ocorre a decomposição completa da matéria orgânica, com uma variação de massa de 8,2%, sendo esta variação relacionada com a massa de polímero condutor, o que interpõe com os resultados observados por Microscopia Eletrônica de Transmissão, onde a prata mostra-se apenas recoberta com uma pequena quantidade de polipirrol, sem a formação de massas densas de polímero. Logo após a perda de massa decorrente da decomposição de matéria orgânica, a Análise Termogravimétrica apresentou um ganho de massa de 2%, isto pode ser atribuído há uma pequena formação de óxido de prata, sobre a superfície das nanopartículas, uma vez que estas estão sem o recobrimento e a análise é realizada em atmosfera com presença de oxigênio.

Através de todas as caracterizações realizadas pode-se afirmar que o papel do polipirrol no nanocompósito é de um recobrimento parcial da matriz inorgânica, de modo a realizar a passivação da prata e garantir sua estabilização impedindo a coalescência do material.

#### 4.4. DESENVOLVIMENTO DE METODOLOGIA ANALÍTICA PARA DETERMINAÇÃO DE GLICOSE

Uma vez estabelecidas as melhores condições de síntese do material proposto e avaliada sua potencialidade para a determinação de glicose, partiu-se para o desenvolvimento de uma metodologia para a sua quantificação utilizando um ECV modificado com uma suspensão aquosa do nanocompósito ( $1,0 \text{ mg mL}^{-1}$ ) obtido com um tempo de reação de 60s e razão molar Ag:Py igual 1:4.

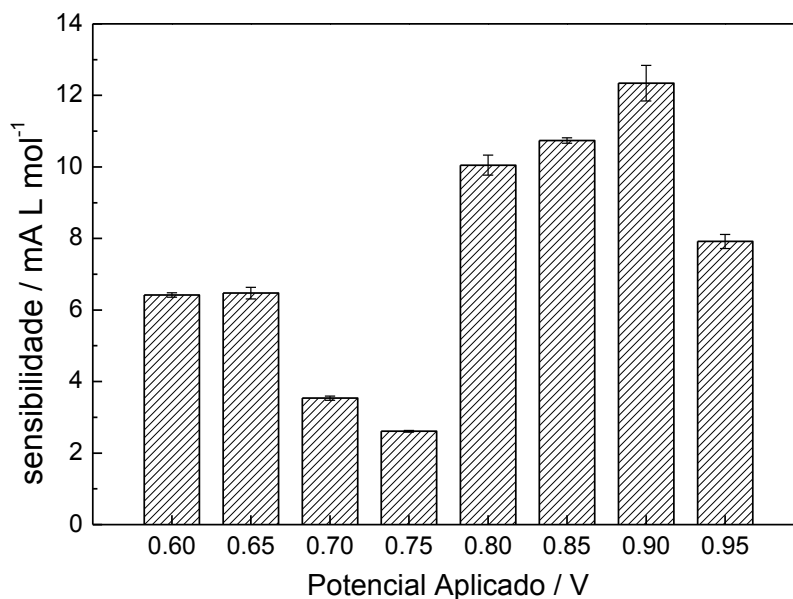
A técnica escolhida nessa etapa foi a cronoamperometria, por tratar-se de uma técnica simples, baseada na aplicação de um potencial fixo ao eletrodo de trabalho registrando-se continuamente os valores de corrente gerados. Além disso, por trabalhar em condições hidrodinâmicas, a cronoamperometria apresenta resultados bastante satisfatórios em termos de sensibilidade.

Para a otimização do procedimento analítico proposto, foram avaliados alguns parâmetros a fim de se obterem os melhores resultados em termos de reprodutibilidade e sensibilidade do sensor. Os parâmetros avaliados nesta etapa do trabalho foram a reprodutibilidade das medidas em presença de glicose para 4 eletrodos diferentes, o potencial aplicado ao eletrodo de trabalho, além do volume da suspensão utilizada na modificação do eletrodo base.

##### 4.4.1. Efeito do potencial aplicado

Para determinar-se qual o melhor potencial aplicado para oxidação da glicose, modificou-se um ECV com  $3,0 \text{ }\mu\text{L}$  da dispersão  $1,0 \text{ mg mL}^{-1}$  do NCAgPPy60-1:4, em água. Após pré-tratamento com 130 ciclos, diferentes valores de potencial foram aplicados ao eletrodo de trabalho, variando de 0,60 a 0,95 V. Para cada valor de potencial avaliado foram realizadas curvas analíticas para glicose, no intervalo de concentração de  $1,0 \times 10^{-4}$  a  $1,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ . A Figura 32 apresenta os valores de sensibilidade em função do potencial aplicado.

FIGURA 32 - VARIAÇÃO DA SENSIBILIDADE PARA ECV MODIFICADO COM NCAgPPy60-1:4 PARA DETERMINAÇÃO DE GLICOSE DE  $1,0 \times 10^{-4}$  a  $1,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ , COM DIFERENTES POTENCIAIS APLICADOS (N=3)



É possível verificar que com o incremento dos valores de potencial, a oxidação da glicose torna-se mais fácil e ocorre um aumento da sensibilidade. Para valores de potencial entre 0,70 e 0,75 V foi observada uma diminuição da sensibilidade atribuída a não formação do AgO e este reagir com a glicose, e, ao mesmo tempo, ser alto demais, de modo a consumir e gerar concomitantemente Ag<sub>2</sub>O e AgO, não estando disponível o Ag<sub>2</sub>O para oxidação dos intermediários. Portanto, o potencial que apresentou melhor resposta eletroanalítica foi de 0,90 V, sendo este o escolhido para continuidade dos estudos.

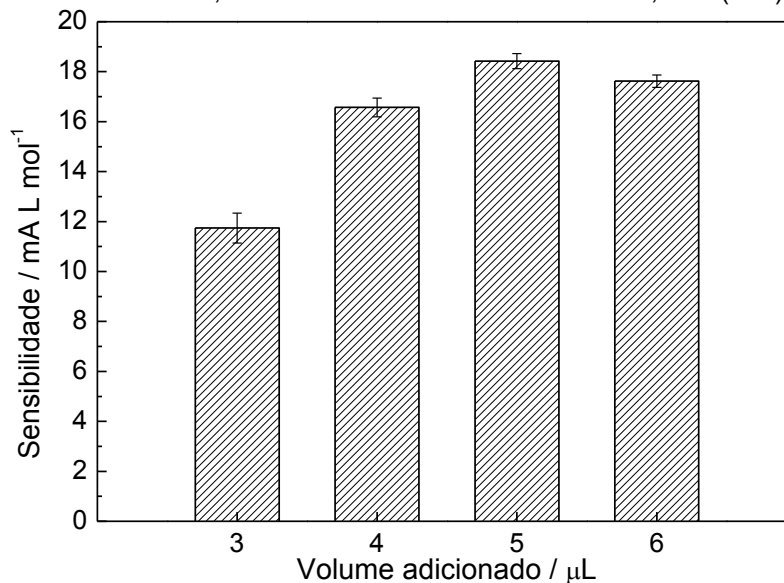
#### 4.4.2. Estudo do volume de dispersão adicionada à superfície do eletrodo

A quantidade de nanocompósito utilizado para a fabricação do EQM é de suma importância, uma vez que este material confere as propriedades catalíticas, como já discutidas. Assim, após determinado o melhor potencial aplicado, estudou-se a quantidade de modificador sobre o ECV, variando-se o volume disperso sobre o eletrodo, de 3,0 a 6,0  $\mu\text{L}$ .

A Figura 33 mostra a variação na sensibilidade em função da quantidade de modificador sobre o eletrodo. Sendo que para cada volume de modificador, realizou-se um estudo de pré-tratamento, uma vez que quantidade de NP exige um número de ciclos diferente para a estabilização do sensor.

FIGURA 33 - VARIAÇÃO DA SENSIBILIDADE PARA ECV MODIFICADO COM NCAgPPy60-1:4 PARA DETERMINAÇÃO DE GLICOSE DE  $1,0 \times 10^{-4}$  a  $1,0 \times 10^{-2}$  mol L<sup>-1</sup> PARA DIFERENTES

VOLUMES DE MODIFICADOR, COM POTENCIAL APLICADO de 0,90 V (n=3)

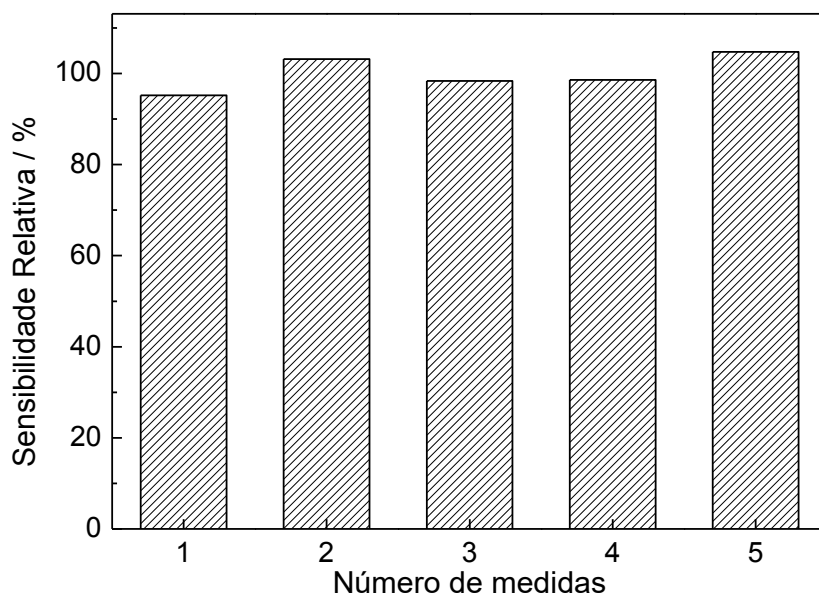


Com o incremento da quantidade de nanocompósito, há um maior número de sítios ativos para promover a oxidação da glicose, e, portanto, originar um maior sinal analítico. Porém, a partir de certa quantidade de nanopartículas, neste caso 6,0  $\mu\text{L}$ , o efeito radial de transporte de massa é sobreposto, dificultando a chegada do analito e, assim, ocorrendo uma queda no sinal analítico. Dessa forma, um volume de 5  $\mu\text{L}$  da dispersão de NCAgPPy60-1:4 foi escolhido para a modificação do eletrodo base, em função da melhor sensibilidade obtida.

#### 4.4.3. Repetibilidade e Reprodutibilidade

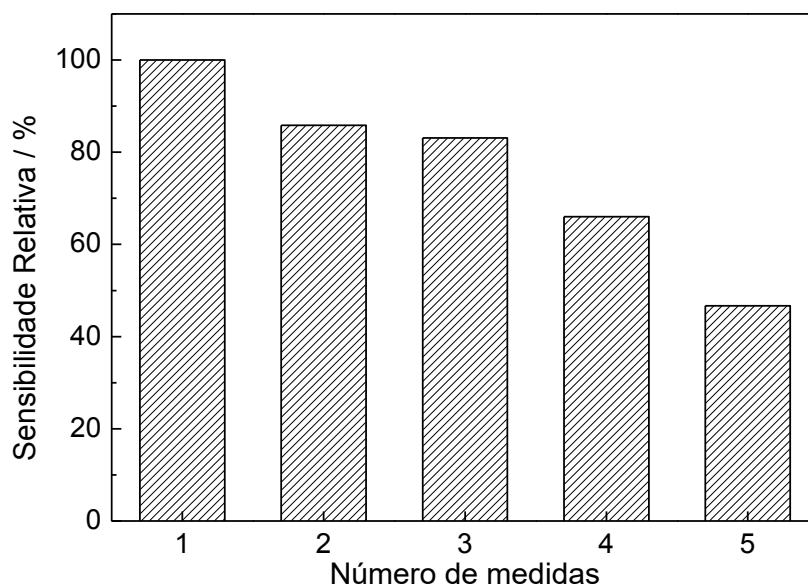
A fim de se garantir um bom desempenho analítico, realizou-se estudos de repetibilidade e reprodutibilidade para EQM proposto na determinação cronoamperométrica de glicose. Para tal, modificou-se o ECV com 3,0  $\mu\text{L}$  da dispersão 1,0  $\text{mg mL}^{-1}$  do NCAgPPy60-1:4, em água. Após pré-tratamento com 130 ciclos, foram realizadas medidas cronoamperométricas aplicando-se um potencial de 0,90 V ao eletrodo de trabalho. Curvas analíticas para glicose no intervalo de concentração de  $1,0 \times 10^{-4}$  a  $1,0 \times 10^{-2}$   $\text{mol L}^{-1}$  foram construídas, posteriormente o eletrodo foi polido com alumina e o procedimento repetido com uma nova modificação. Os resultados obtidos estão apresentados na Figura 34.

FIGURA 34 - VARIAÇÃO DA SENSIBILIDADE PARA ECV MODIFICADO COM 5,0  $\mu\text{L}$  DO NCAgPPy60-1:4 PARA DETERMINAÇÃO DE GLICOSE DE  $1,0 \times 10^{-4}$  a  $1,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$



É possível observar que não houve uma variação maior que 5% entre os coeficientes angulares encontrados para as diferentes curvas analíticas mostrando uma boa reprodutibilidade do método. Visando verificar possíveis efeitos de envenenamento ou perda de atividade para a oxidação da glicose medidas consecutivas foram obtidas para o mesmo EQM. Os resultados da variação na sensibilidade em função do número de medidas está apresentado na Figura 35.

FIGURA 35 - VARIAÇÃO DA SENSIBILIDADE PARA ECV MODIFICADO COM 5,0  $\mu\text{L}$  DO NCAgPPy60-1:4 PARA DETERMINAÇÃO DE GLICOSE DE  $1,0 \times 10^{-4}$  a  $1,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$



É possível verificar que as medidas consecutivas não se apresentaram repetitivas com uma diminuição na sensibilidade de aproximadamente 40% para curvas analíticas obtidas para a mesma superfície. Este decaimento constante na sensibilidade do sensor pode ser atribuído a um envenenamento da superfície do eletrodo, pelos diversos intermediários gerados a partir da oxidação da glicose, sendo que outro fator possível é a perda de material eletródico, pela lixiviação do nanomaterial para o seio da solução de leitura.

#### 4.4.4. Curva Analítica para a Determinação de Glicose

Após determinar todas as condições ótimas para o procedimento proposto (Tabela 3), determinou-se a região linear de resposta do sensor para a determinação cronoamperométrica de glicose.

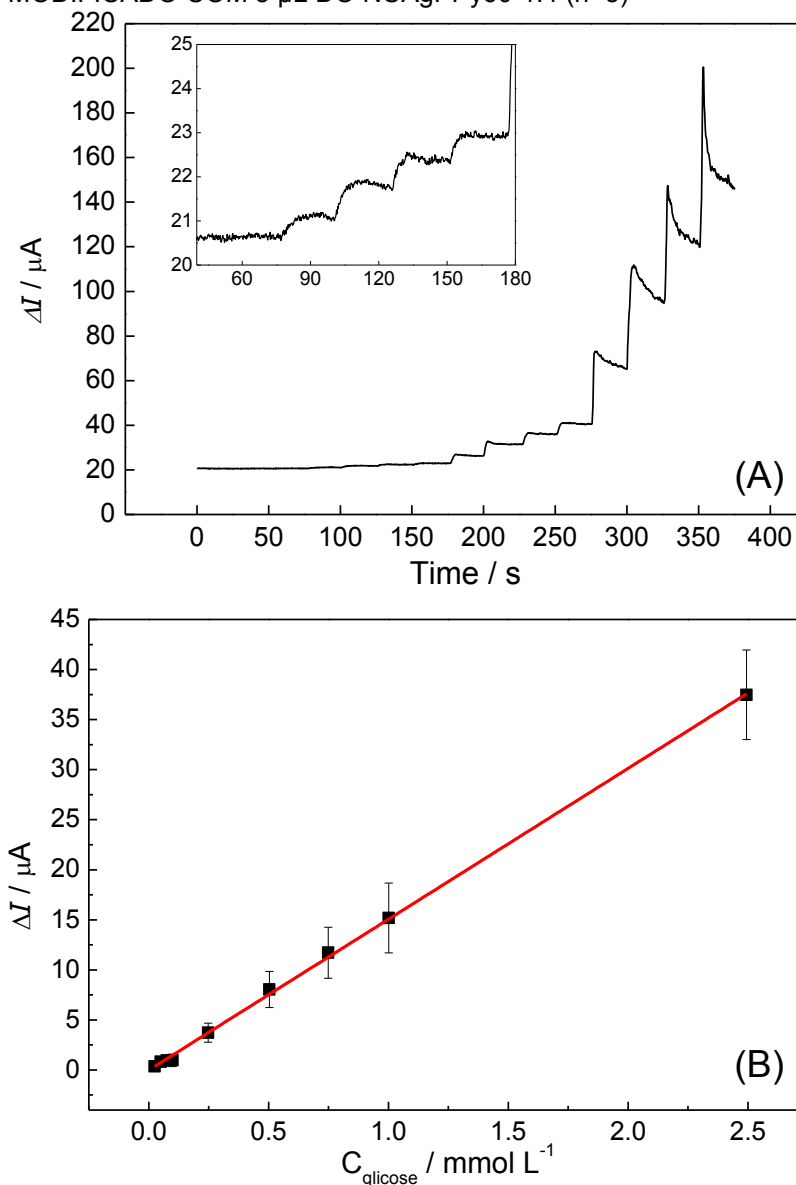
TABELA 3 - CONDIÇÕES OTIMIZADAS PARA DETERMINAÇÃO DE GLICOSE POR CRONOAMPEROMETRIA

<b>Nanocompósito</b>	NCAgPPy60-1:4
<b>Volume de modificador</b>	5,0 $\mu\text{L}$
<b>Pré-tratamento</b>	VC: 190 ciclos, $v$ 100 $\text{mV s}^{-1}$
<b>Potencial aplicado</b>	0,90 V

Na Figura 36A é apresentado um cronoamperograma e, na Figura 36B, a curva analítica correspondente para a determinação em triplicata.

Observa-se uma dependência linear dos sinais de corrente gerados em função da adição de glicose à célula eletroquímica no intervalo de concentração de  $2,5 \times 10^{-5}$  a  $2,5 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$  com uma sensibilidade de  $15,1 \mu\text{A L mmol}^{-1}$ . Calculou-se o limite de detecção (LD) é de  $3,6 \mu\text{mol L}^{-1}$ , aplicando-se a equação  $\text{LD} = 3 \times (\text{desvio padrão do branco})/b$ .

FIGURA 36 - (A) CRONOAMPEROGRAMA OBTIDO PARA O ECV MODIFICADO COM NCAgPPy60-1:4 PARA DETERMINAÇÃO DE GLICOSE DE  $2,5 \times 10^{-5}$  a  $1,0 \times 10^{-2}$  mol L<sup>-1</sup> (DETALHE) APROXIMAÇÃO DA REGIÃO DE 0 A 250 S; E (B) CURVA ANALÍTICA PARA O ELETRODO MODIFICADO COM 5  $\mu$ L DO NCAgPPy60-1:4 (n=5)



A fim de realizar uma comparação da performance do sensor desenvolvido, diversos sensores para glicose apresentados na literatura foram listados da Tabela 4. O NCAgPPy/GCE mostrou um baixo limite de detecção (LD) e largo intervalo de resposta linear (LDR), se comparado a outros eletrodos modificados com diversos metais, como paládio e ouro no eletrodo impresso de carbono revestido com paládio SPC/Pd [76] e o eletrodo de óxido de estanho e índio modificado com nanopartículas de ouro Au/ITO [80], além de sensores fabricado com nanocompósitos compostos por um metal e um polímero condutor, como Pd-PEDOTn/GCE [83]. Os parâmetros de mérito atingidos pelo



sensor proposto podem ser atribuídos a grande área superficial e a atividade eletrocatalítica do NCAgPPy.

**Tabela 5** - Comparação do desempenho analítico do sensor proposto com outros sensores de glicose publicados

Eletrodo	Técnica	LDR (mol L <sup>-1</sup> )	LD (mol L <sup>-1</sup> )	Ref.
CuO/rGO/CNF/GCE	Amperometria	$1,0 \times 10^{-6}$ - $5,3 \times 10^{-3}$	$1,0 \times 10^{-7}$	[29]
SPC/Pd	Voltametria de onda quadrada	$2,9 \times 10^{-6}$ - $1,1 \times 10^{-4}$ $3,0 \times 10^{-3}$ - $10,9 \times 10^{-3}$	$7,8 \times 10^{-7}$ $2,6 \times 10^{-5}$	[76]
NiO/Pt/ERGO/GCE	Amperometria	$5,0 \times 10^{-5}$ - $5,7 \times 10^{-3}$	$2,0 \times 10^{-7}$	[77]
CuO/G/GCE	Amperometria	$2,0 \times 10^{-6}$ - $4,0 \times 10^{-3}$	$7,0 \times 10^{-7}$	[78]
CuO/MWCNT/GCE	Voltametria de pulso diferencial	acima de $3,0 \times 10^{-2}$	$4,0 \times 10^{-6}$	[79]
Au/ITO	Voltametria cíclica	$1,0 \times 10^{-6}$ - $1,7 \times 10^{-4}$ $2,0 \times 10^{-4}$ - $1,5 \times 10^{-2}$	$4,0 \times 10^{-7}$	[80]
LaTiO <sub>3</sub> -Ag0.2/GCE	Amperometria	$2,5 \times 10^{-6}$ - $4,0 \times 10^{-3}$	$2,1 \times 10^{-7}$	[81]
NiCFP	Amperometria	$2,0 \times 10^{-6}$ - $2,5 \times 10^{-3}$	$1,0 \times 10^{-6}$	[82]
Pd-PEDOTn/GCE	Amperometria	$4,0 \times 10^{-5}$ - $9,0 \times 10^{-3}$	$1,6 \times 10^{-6}$	[83]
Este Trabalho	Amperometria	$2,5 \times 10^{-5}$ a $2,5 \times 10^{-3}$	$3,6 \times 10^{-6}$	-

CuO/rGO/CNF/GCE - eletrodo de carbono vítreo modificado com nanoagulhas de óxido de cobre/grafeno/nanofibras de carbono; SPC/Pd - eletrodo impresso de carbono revestido com paládio; NiO/Pt/ERGO/GCE - eletrodo de carbono vítreo modificado com nanopartículas de óxido de níquel e nanopartículas de platina/óxido de grafeno; CuO/G/GCE - eletrodo de carbono vítreo modificado com nanocubos de óxido de cobre e grafeno; CuO/MWCNT/GCE - eletrodo de carbono vítreo modificado com nanopartículas de óxido de cobre e nanotubos de carbono *multiwall*; Au/ITO - eletrodo de óxido de estanho e índio modificado com nanopartículas de ouro; LaTiO<sub>3</sub>-Ag0.2/GCE - eletrodo de carbono vítreo modificado com nanopartículas de óxido de titânio e lantânio com 20% de prata; NiCFP - eletrodo de pasta de níquel revestido por nanofibra de carbono; Pd-PEDOTn/GCE - eletrodo de carbono vítreo modificado com nanopartículas de paládio incorporadas a nanofibra de poli(3,4-etilenodioxifenol).

LDR: Intervalo de resposta linear; LD: limite de detecção.

#### 4.4.5. Determinação de Glicose em saliva sintética

A *diabetes mellitus* é uma das principais causas de morte e incapacidade no mundo e é altamente responsável pelo agravamento de doenças cardíacas, insuficiência renal e cegueira [12]. Diante do cenário mundial, faz-se necessário o desenvolvimento de métodos rápidos, baratos e eficientes para a determinação de glicose no organismo, pois o controle dos teores desta substância no sangue pode salvar muitas vidas. Nesse contexto, o uso de sensores eletroquímicos se torna uma alternativa bastante atraente, pois consegue conciliar aspectos como

baixo custo e portabilidade, com boa detectabilidade e seletividade nos procedimentos.

Outro fator importante são que os procedimentos de determinação de glicose portáteis disponíveis atualmente são invasivos, sendo necessário que o paciente retire uma pequena porção de sangue, tornando tais procedimentos incômodos e dolorosos. Uma alternativa viável para o monitoramento diário é através da saliva, porém sua concentração é muito mais baixa que a encontrada no soro sanguíneo entre 25 e 100  $\mu\text{mol L}^{-1}$ , sendo que os dispositivos atuais não atinjam tais limites de detecção [14].

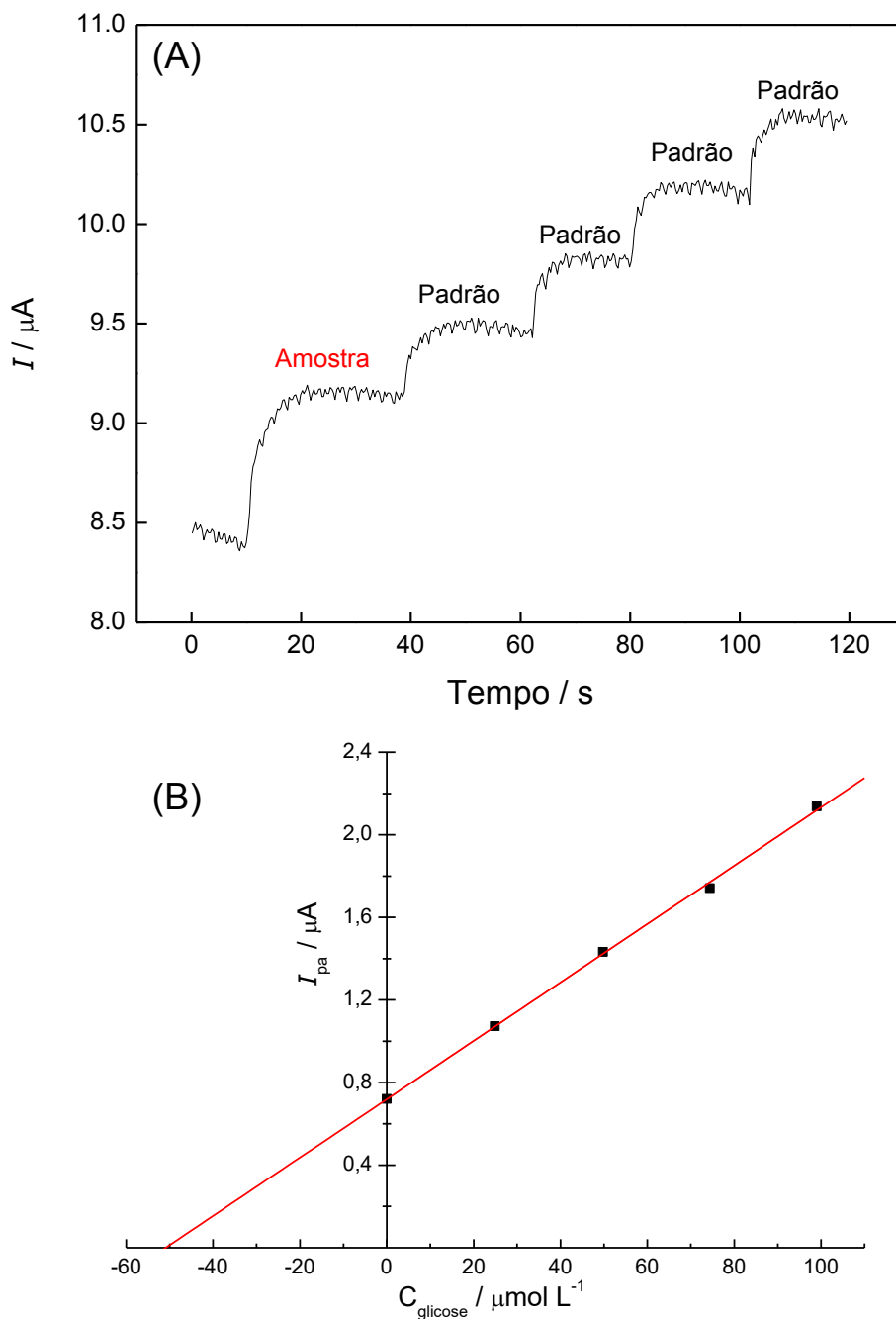
A determinação de glicose em saliva foi realizada utilizando uma amostra enriquecida de saliva artificial. O estudo de adição e recuperação foi realizado para três diferentes concentrações: 30, 50 e 80  $\mu\text{mol L}^{-1}$  de glicose. Os resultados podem ser vistos na Tabela 4.

TABELA 5 - ESTUDO DE RECUPERAÇÃO DE GLICOSE EM SALIVA ARTIFICIAL (N=3)

Adicionado ( $\mu\text{mol L}^{-1}$ )	Encontrado ( $\mu\text{mol L}^{-1}$ )	Recuperado (%)
30,00	29,83 $\pm$ 1,79	101,51 $\pm$ 7,16
50,00	49,46 $\pm$ 1,28	99,06 $\pm$ 2,57
80,00	84,56 $\pm$ 4,93	105,46 $\pm$ 6,34

Na Figura 37 apresenta-se o cronoamperograma e a curva analítica para a amostra enriquecida com 50  $\mu\text{mol L}^{-1}$  de glicose. Em que se obteve uma boa resposta de recuperação, como também uma boa linearidade com  $R^2$  de 0,9986.

FIGURA 37 - (A) CRONOAMPEROGRAMA COM ADIÇÃO DE PADRÃO DO ECV MODIFICADO COM NCAgPPy60-1:4 COM ENRIQUECIMENTO  $50 \mu\text{mol L}^{-1}$  DE GLICOSE EM SALIVA ARTIFICIAL SAGF; (B) CURVA ANALÍTICA DE ADIÇÃO DE PADRÃO, NAS CONCENTRAÇÕES DE 25, 50, 75 e  $100 \mu\text{mol L}^{-1}$  DE GLICOSE



O nanocompósito apresentou boa recuperação para os três níveis estudados, se mostrando viável para a aplicação como um modificador para o desenvolvimento de um sensor não-enzimático para determinação de glicose em amostras de saliva.

## 5 CONCLUSÕES

Foi possível sintetizar um novo material nanoparticulado, composto por polipirrol e prata, baseado na espontânea redução do metal pelo monômero de pirrol sem a necessidade de empregar outro passivante ou estabilizante. Um melhor controle e menor tamanho das partículas foi conseguido com a técnica de microemulsão reversa, onde cada micela funciona como um nanorreator, possibilitando o controle de tamanho pelo controle do tamanho da micela.

Um processo de otimização da síntese foi baseado no melhor comportamento eletroquímico do material com relação a um analito foi proposto e avaliado. Nesse aspecto vale ressaltar que essa estratégia é inovadora e permite o desenvolvimento de um material com finalidade específica.

A estimativa da quantidade de prata ativa no nanocompósito se mostrou muito superior quando comparada a um eletrodo de prata (*bulk*).

O desempenho analítico do sensor se apresentou muito interessante, demonstrando ser um dispositivo facilmente reproduzido, e possibilitou o desenvolvimento de uma metodologia simples e direta para determinação cronoamperométrica da glicose.

Comparando-se todos os resultados obtidos com outros nanomateriais desenvolvidos para a determinação de glicose, o nanocompósito proposto apresenta alta sensibilidade, um baixo limite de detecção e uma extensa faixa linear (Tabela 4).

O sensor apresentou resultados satisfatórios para a determinação de glicose em saliva artificial, conseguindo obter bons níveis de recuperação. Portanto, este novo nanocompósito pode ser aplicado para a criação de sensor não-enzimático para glicose, com controle de níveis glicêmicos por um procedimento não invasivo, melhorando a qualidade de vida de pacientes diabéticos.

## REFERÊNCIAS

- 1 - RAHMAN, M. M.; AHAMMAD A. J. S.; JIN, J.-H.; AHN S.J.; LEE J.-J. A Comprehensive Review of Glucose Biosensors Based on Nanostructured Metal-Oxides. **Sensors**. v. 10(5), 2010, 4855-4886.
- 2 - WANG, J. Electrochemical Glucose Biosensors. **Chem. Rev.**, v. 108 (2), 2008, p. 814–825.
- 3 - PARK, S.; BOO, H.; CHUNG, T. D. Electrochemical non-enzymatic glucose sensors, **Analytica Chimica Acta**, v. 556, issue 1, jan. 2006, p. 46-57.
- 4 - HOSOKAWA, M.; NOGI, K.; NAITO, M.; YOKOYAMA, T. (Eds). **Nanoparticle Technology Handbook**. Amsterdam: Elsevier, 2007.
- 5 - ZARBIN, A. J. G. Química de (nano)materiais. **Quím. Nova**, São Paulo, v. 30, n. 6, p. 1469-1479, 2007.
- 6 - RAO, C. N. R.; MÜLLER, A.; CHEETHAM, A. K. **The Chemistry of Nanomaterials: Synthesis, Properties and Applications**. Wiley-VCH: Weinheim, 2004.
- 7 - POMOGAILO, A. D.; KESTELMAN, V. N. **Metallopolymer Nanocomposites**. Springer: Heidelberg, 2005.
- 8 - EFTEKHARI, A. **Nanostructured Conductive Polymers**. John Wiley & Sons: Chippenham, 2010.
- 9 - GUO, Z.; TAN, L. **Fundamentals and Applications of Nanomaterials**. Artech House: Norwood, 2009.

10 - CABALLERO, B. **Encyclopedia of Human Nutrition**, 3a ed. Academic Press:Waltham, 2013.

11 - LENNARZ, W. J.; LANE, M. D. **Encyclopedia of Biological Chemistry**, Elsevier:New York, 2004.

12 - BRASIL, Ministério da Saúde. **DIABETES MELLITUS**, Cadernos de Atenção Básica - n.º 16, Ministério da Saúde:Brasília - DF, 2006.

13 - SUMITA, N. M.; ANDRIOLO, A. Importância da determinação da hemoglobina glicada no monitoramento do paciente portador de diabetes mellitus. **J. Bras. Patol. Med. Lab.**, Rio de Janeiro, v. 42, n. 3, jun. 2006.

14 - CETIK, S.; ZHANG, Y.; HUPKENS, E.; JURYSTA, C.; MALAISSE, W. J.; SENER, A. A tentative model for d-glucose turnover in human saliva, **Archives of Oral Biology**, v. 58 (10), out. 2013, p. 1265-1270.

15 - JURYSTA, C.; BULUR, N.; OGUZHAN, B. Salivary Glucose Concentration and Excretion in Normal and Diabetic Subjects, **Journal of Biomedicine and Biotechnology**, v. 2009, 2009, ID 430426.

16 - CORDOVA, C. M. M.; VALLE, J. P.; YAMANAKA, C. N.; CORDOVA, M. M. Determinação das glicemias capilar e venosa com glicosímetro versus dosagem laboratorial da glicose plasmática. **J. Bras. Patol. Med. Lab.**, v.45, n.5, 2009, p. 378-384.

17 - YAZAWA, N.; ONO, J.; YOSHIMURA, H.; KIMURA, S. Influence of nonspecific reaction on determination of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> using Trinder reagents, **Clinica Chimica Acta**, v 360, issues 1–2, out. 2005, p. 52-59.

18 - TRINDER, P. Determination of Glucose in Blood Using Glucose Oxidase with an Alternative Oxygen Acceptor. **Ann Clin Biochem**, 1969 6, p. 24-27.

19 - VALENZUELA, H. L. D.; ORTÍZ R. L. R. Estabilidad de la glucosa oxidasa en sistemas amorfos formados por los disacáridos sacarosa, maltosa y trehalosa. **Quím. Nova**, v. 30, n. 7, 2007, p. 1633-1637.

20 - CLARK, L. C.; LYONS, C. Electrode systems for continuous monitoring in cardiovascular surgery. **Annals of the New York Academy of Sciences**, 102, 1962, 29–45.

21 - CARR, P. W.; BROWERS, L. D. **Immobilized Enzyme in Analytical Chemistry**. In *Advances In Biochemical Engineering/Biotechnology*, Springer Berlin:Heidelberg, 1980, p. 89–129.

22 - YI, X.; PATOLSKY, F.; KATZ, E.; HAINFELD, J.F.; WILLNER, I. Plugging into Enzymes: Nanowiring of Redox Enzymes by a Gold Nanoparticle. **Science**, 299, 2003, p. 1877–1881.

23 - BASU, S.; KANG, W. P.; DAVIDSON, J. L.; CHOI, B. K.; BONDS, A. B.; CLIFFEL, D. E. Electrochemical Sensing Using Nanodiamond Microprobe. **Diam. Relat. Mat.**, v. 15, 2006, p. 269–274.

24 - PIAO, Y.; HAN D. J.; SEO, T. S. Highly conductive graphite nanoparticle based enzyme biosensor for electrochemical glucose detection, **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 194, abr. 2014, p. 454-459.

25 - MONTAGNANA, M.; CAPUTO, M.; GIAVARINA, D.; LIPPI, G. Overview on self-monitoring of blood glucose, **Clinica Chimica Acta**, v. 402, issues 1–2, abr. 2009, p. 7-13.

26 - PICKUP, J. C.; HUSSAIN, F.; EVANS, N. D.; SACHEDINA, N. In vivo glucose monitoring: the clinical reality and the promise, **Biosensors and Bioelectronics**, v. 20 (10), abr. 2005, p. 1897-1902.

27 - AMARAL, C. E. F.; WOLF, B. Current development in non-invasive glucose monitoring, **Medical Engineering & Physics**, v. 30 (5), jun. 2008, p. 541-549.

28 - SHAHRIARY, L.; HARAM, S. K.; ATHAWALE, A. A. Non-enzymatic electrochemical glucose sensor based on silver/silver oxide nano-rods reinforced with multiwall carbon nanotubes, **Talanta**, v. 104, 2013, p. 212-218.

29 - YE, D.; LIANG, G.; LI, H.; LUO, J.; ZHANG, S.; CHEN, H.; KONG, J. A novel nonenzymatic sensor based on CuO nanoneedle/graphene/carbon nanofiber modified electrode for probing glucose in saliva, **Talanta**, v. 116, nov. 2013, p. 223-230.

30 - FRADEN - **Handbook of Modern Sensors Physics Designs and Applications**. 3. ed. San Diego: Springer, 2004.

31 - GRÜNDLER. **Chemical Sensors**: An Introduction for Scientists and Engineers. Leipzig: Springer, 2007.

32 - STETTER, J. R.; PENROSE, W. R.; YAO, S. Sensors, Chemical Sensors, Electrochemical Sensors, and ECS. **Journal of The Electrochemical Society**, v. 150 (2), p. S11-S16, 2003.

33 - WANG, J. **Analytical Electrochemistry**. 2. ed. New York: Wiley-VCH, 2000.

34 - BARD, A. J.; FAULKNER, L. R. **Electrochemical Methods**: Fundamentals and Applications. 2. ed. New York: Wiley-VCH, 2000.

35 - LOWINSOHN, D.; BERTOTTI, M. Sensores eletroquímicos: considerações sobre mecanismos de funcionamento e aplicações no monitoramento de espécies químicas em ambientes microscópicos. **Química Nova**, São Paulo, v. 29, n. 6, p. 1318-1325, dec. 2006.

36 - KORYTA, J.; DVORAK, J.; KAVAN, L. **Principles of electrochemistry**. 2. ed. Chichester: John Wiley & Sons, 1993.

37 - 29 - JOO, S.; BROWN, R. B. Chemical Sensors with Integrated Electronics. **Chem. Rev.**, v. 108, n. 2, p. 638-651, 2008.



38 - PEREIRA, A. C.; SANTOS, A. S.; KUBOTA, L. T. Tendências em modificação de eletrodos amperométricos para aplicações eletroanalíticas. **Quím. Nova**, São Paulo, v. 25, n. 6a, nov. 2002.

39 - ALKIRE, R. C.; KOLB, D. M.; LIPKOWSKI, J.; ROSS, P. N. Chemically Modified Electrodes. v. 11. In: **Advances in Electrochemical Science and Engineering**. Weinheim: Wiley-VCH, 2009.

40 - VENDRAME, Z. B. **Eletrodos modificados e não modificados na determinação de compostos sulfurados - um estudo comparativo**. Santa Maria, 2004.

41 - CAMPBELL, F. W.; COMPTON, R. G. The use of nanoparticles in electroanalysis: an updated review. **Anal Bioanal Chem**, v. 396, p. 241-259, 2009.

42 - YU, L.; ANDRIOLA, A. Quantitative gold nanoparticle analysis methods: A review, **Talanta**, v. 82 (3), ago. 2010, p. 869-875.

43 - SHAHROKHIAN, S.; SALIMIAN, R.; RASTGAR, S. Pd–Au nanoparticle decorated carbon nanotube as a sensing layer on the surface of glassy carbon electrode for electrochemical determination of ceftazidime, **Materials Science and Engineering: C**, v. 34, jan. 2014, p. 318-325.

44 - WANG, X.; WU, M.; TANG, W.; ZHU, Y.; WANG, L.; WANG, Q.; HE, P.; FANG, Y. Simultaneous electrochemical determination of ascorbic acid, dopamine and uric acid using a palladium nanoparticle/graphene/chitosan modified electrode, **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 695, abr. 2013, p. 10-16.

45 - LIDE, D. R. **Handbook of Chemistry and Physics**. 87 ed. Taylor and Francis: Boca Raton, 2007.

46 - WELCH, C. M.; BANKS, C. E.; SIMM, A. O.; COMPTON, R. C. Silver nanoparticle assemblies supported on glassy-carbon electrodes for the electro-

analytical detection of hydrogen peroxide. **Anal Bioanal Chem**, v. 382, p. 12–21, abr. 2005.

47 - OLIVEIRA, P. R.; OLIVEIRA, M. M.; ZARBIN, A. J. G.; MARCOLINO-JUNIOR, L. H.; BERGAMINI, M. F. Flow injection amperometric determination of isoniazid using a screen-printed carbon electrode modified with silver hexacyanoferrates nanoparticles. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v 171–172, ago-set. 2012, p. 795-802.

48 - KARADAS, N.; BOZAL-PALABIYIK, B.; USLU, B.; OZKAN, S. A. Functionalized carbon nanotubes—With silver nanoparticles to fabricate a sensor for the determination of zolmitriptan in its dosage forms and biological samples, **Sensors and Actuators B: Chemical**, v 186, set. 2013, p. 486-494.

49 - OZIN, G. A. “Nanochemistry: synthesis in diminishing dimensions”, **Adv. Mater.**, v. 4 (10), p. 612, 1992.

50 - SCHMID, G. **Nanoparticles: From Theory to Application**. 2 ed. Wiley-VCH: Weinheim, 2010.

51 - Li, L.; YAN, G.; WU, J.; YU, X.; Guo, Q. Preparation of polyaniline–metal composite nanospheres by in situ microemulsion polymerization, **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 326 (1), out. 2008, p. 72-75.

52 - KICKELBICK, G; LIZ-MARZÁN, L. M. Core-Shell Nanoparticles. In: Nalwa, H. S. (Ed). **Encyclopedia of Nanoscience and Nanotechnology**. v. 2, American Scientific Publishers: Valencia, 2004.

53 - STUBENRAUCH, Cosima. **Microemulsions: Background, New Concepts, Applications, Perspectives**. Blackwell Publishing: Singapore, 2009.

54 - PHONGPHUT, A.; SRIPRACHUABWONG, C.; WISITSORAAT, A.; TUANTRANONT, A.; PRICHANONT, S.; SRITONGKHAM, P. A disposable amperometric biosensor based on inkjet-printed Au/PEDOT-PSS nanocomposite for triglyceride determination, **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 178, mar. 2013, p. 501-507.

55 - NIE, T.; ZHANG, K.; XU, J.; LU, L.; BAI, L. A facile one-pot strategy for the electrochemical synthesis of poly(3,4-ethylenedioxythiophene)/Zirconia nanocomposite as an effective sensing platform for vitamins B2, B6 and C, **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 717–718, mar. 2014, p. 1-9.

56 - REZAEI, B.; BOROUJENI, M. K.; ENSAFI, A. A. A novel electrochemical nanocomposite imprinted sensor for the determination of lorazepam based on modified polypyrrole@sol-gel@gold nanoparticles/pencil graphite electrode, **Electrochimica Acta**, v. 123, mar. 2014, p. 332-339.

57 - LIZ-MARZÁN, L. M.; KAMAT, P. V. **Nanoscale Materials**. Kluwer Academic Publishers: Dordrecht, 2003.

58 - 56 - GRADZIELSKI, M. Recent developments in the characterisation of microemulsions. **Colloid & Interface Science**, v. 13, nov. 2007, p. 263–269.

59 - DESTREE, C.; NAGY, J. B. Mechanism of formation of inorganic and organic nanoparticles from microemulsions. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 123–126, jun, 2006, p. 353–367.

60 - FANUN, M. **Microemulsions**: Properties and Applications. In: HUBBARD, Arthur T. (Ed). Surfactant Science Series. v. 114, Taylor & Francis Group: Boca Raton, 2009.

61 - LADJ, R.; BITAR, A.; EISSA, M. M.; FESSI, H.; MUGNIER, Y.; DANTEC, R.; ELAÏSSARI, A. Polymer encapsulation of inorganic nanoparticles for biomedical applications, **International Journal of Pharmaceutics**, v. 458 (1), dz. 2013, p. 230-241.

62 - DENG, Y.; WANG, L.; YANG, W.; FU, S.; ELAÏSSARI, A. Preparation of magnetic polymeric particles via inverse microemulsion polymerization process, **Journal of Magnetism and Magnetic Materials**, v. 257 (1), fev. 2003, p. 69-78.

63 - SUN, L.; SHI, Y.; LI, B.; CHU, L.; HE, Z.; LIU, J. Synthesis and characterization of polypyrrole/Au nanocomposites by microemulsion

polymerization, **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 397, mar. 2012, p. 8-11.

64 - LI, L.; YAN, G.; WU, J.; YU, X.; GUO, Q. Preparation of polyaniline–metal composite nanospheres by in situ microemulsion polymerization, **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 326 (1), out. 2008, p. 72-75.

65 - GAL, J.; FOVET, Y.; ADIB-YADZI, M. About a synthetic saliva for in vitro studies, **Talanta**, v 53 (6) mar. 2001, p. 1103-1115.

66 - CAETANO, F. R.; GEVAERD, A.; CASTRO, E. G.; BERGAMINI, M. F.; ZARBIN, A. J. G.; MARCOLINO-JUNIOR H. L. Electroanalytical application of a screen-printed electrode modified by dodecanethiol-stabilized platinum nanoparticles for dapsone determination, **Electrochimica Acta**, v. 66, abr. 2012, p. 265-270.

67 - FENG, D.; WANG, F.; CHEN, Z. Electrochemical glucose sensor based on one-step construction of gold nanoparticle–chitosan composite film, **Sensors and Actuators B: Chemical**, v 138 (2), 2009, p. 539-544.

68 - QIU, C.; WANG, X.; LIU, X.; HOU, S.; MA, H. Direct electrochemistry of glucose oxidase immobilized on nanostructured gold thin films and its application to bioelectrochemical glucose sensor, **Electrochimica Acta**, v. 67, abr. 2012, p. 140-146.

69 - ZHANG, J.; DING, N.; CAO, J.; WANG, W.; CHEN, Z. In situ attachment of cupric oxide nanoparticles to mesoporous carbons for sensitive amperometric non-enzymatic sensing of glucose, **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 178, mar. 2013, p. 125-131.

70 - QUAN, Z.; PARK, S.; PARK, J. Electrochemical oxidation of glucose on silver nanoparticle-modified composite electrodes. **Electrochimica Acta**, v. 55 (7), 2010, p. 2232-2237.

71 - REHIM, Sayed S. Abd El; HASSAN, Hamdy H.; IBRAHIM, Magdy A. M.; AMIN, Mohammed A. Electrochemical Behaviour of a Silver Electrode in NaOH Solutions. **Monatshefte für Chemie** 129, 1998, p. 1103-1117.

72 - RAWAL, I.; KAUR, A. Synthesis of mesoporous polypyrrole nanowires/nanoparticles for ammonia gas sensing application, **Sensors and Actuators A: Physical**, v 203, dez. 2013, p 92-102.

73 - POOLE, Charles P. Jr.; OWENS, Frank J. **Introduction to Nanotechnology**. Wiley-Interscience: Hoboken, 2003.

74 - JCPDS - Joint Committee on Powder Diffraction Standards, **International Center for Diffraction Data**, 1995.

75 - AKAY, M. **Introduction to Polymer Science and Technology**. Ventus Publishing Aps:Dinamarca, 2012.

76 - HUANG, H.-Y.; CHEN, P.-Y. PdNi- and Pd-coated electrodes prepared by electrodeposition from ionic liquid for nonenzymatic electrochemical determination of ethanol and glucose in alkaline media, **Talanta**, v. 83 (2), dez. 2010, p. 379-385.

77 - LI M., BO, X.; MU, Z.; ZHANG, Y.; GUO, L. Electrodeposition of nickel oxide and platinum nanoparticles on electrochemically reduced graphene oxide film as a nonenzymatic glucose sensor, **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 192, mar. 2014, p. 261-268.

78 - LUO, L.; ZHU, L.; WANG, Z. Nonenzymatic amperometric determination of glucose by CuO nanocubes–graphene nanocomposite modified electrode, **Bioelectrochemistry**, v. 88, dez. 2012, p. 156-163.

79 - SHEKARCHIZADEH, H.; KADIVAR, M.; ENSAFI, A. A. Rapid nonenzymatic monitoring of glucose and fructose using a CuO/multiwalled carbon nanotube nanocomposite-modified glassy carbon electrode, **Chinese Journal of Catalysis**, v. 34 (6), jun. 2013, p. 1208-1215.

80 - FU, Y.; LIANG, F.; TIAN, H.; HU, J. Nonenzymatic glucose sensor based on ITO electrode modified with gold nanoparticles by ion implantation, **Electrochimica Acta**, v. 120, fev. 2014, p. 314-318.

81 - WANG, Y.-Z.; ZHONG, H.; LI, X.-M.; JIA, F.-F.; SHI, Y.-X.; ZHANG, W.-G.; CHENG, Z.-P.; ZHANG, L.-L.; WANG, J.-K. Perovskite LaTiO<sub>3</sub>-Ag<sub>0.2</sub> nanomaterials for nonenzymatic glucose sensor with high performance, **Biosensors and Bioelectronics**, v. 48, out. 2013, p. 56-60.

82 - LIU, Y.; TENG, H.; HOU, H.; YOU, T. Nonenzymatic glucose sensor based on renewable electrospun Ni nanoparticle-loaded carbon nanofiber paste electrode, **Biosensors and Bioelectronics**, v. 24 (11), jul. 2009, p. 3329-3334.

83 - HOSSEINI, H.; REZAEI, S. J. T.; RAHMANI, P.; SHARIFI, R.; NABID, M. R.; BAGHERI, A. Nonenzymatic glucose and hydrogen peroxide sensors based on catalytic properties of palladium nanoparticles/poly(3,4-ethylenedioxythiophene) nanofibers, **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 195, mai. 2014, p. 85-91.